MEMORIAS
DO
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Tomo XXV Fevereiro — 1931 Fasciculo 1

Pesquizas experimentaes sobre o veneno do sapo commum do Brasil (Bufo marinus Linn.) (1ª. memoria) (*)

pelos

DRS. J. VELLARD e M. MIGUELOTE VIANNA

(Com as estampas I—XII)

O veneno de *Bufo marinus* injectado por via parenteral ou simplesmente depositado sobre as mucosas, determina o apparecimento de symptomas muito complexos: convulsões, paralysias, modificações do rythmo cardiaco e da respiração, nauseas, hypersecreções diversas, etc., já descriptas em parte por um de nós em publicações anteriores.

Afim de esmiuçar esses factos, resolvemos nós iniciar uma serie de novas pesquizas. Neste primeiro trabalho, estudaremos a acção geral desse veneno e algumas particularidades da sua acção sobre os centros nervosos. As acções sobre o rythmo cardiaco, pressão arterial e respiração serão publicadas proximamente em detalhes em varias outras memorias.

HISTORICO

A acção exercida sobre o systema nervoso pelo veneno das especies européas de sapos foi interpretada dos modos os mais diversos e mesmo negada por alguns autores. Os symptomas na descripção classica de Vulpian: periodo de excitação, seguido de depressão, de nauseas, de convulsões e de opisthotonos em alguns animaes, foram attribuidos pela maio-

(*) Recebido para publicação a 26 de Novembro de 1930.

ria de observadores por uma acção directa sobre os centros nervosos, emquanto que outros como Faust não querem ahi ver se não uma consequencia dos disturbios circulatorios provocados por esse veneno.

Nestes ultimos annos, numerosos trabalhos, foram publicados sobre os venenos de sapos europeus. Quasi todos concluem pela existencia de duas acções principaes, frequentemente attribuidas a substancias differentes: a bufotalina isolada por Faust, Wieland e outros autores e sua acção parecida com a da digitalina é hoje bem conhecida; o segundo principio sobre o qual os autores estão menos de accordo, agiria mais especialmente sobre os centros nervosos, determinando, segundo os animaes ou condições experimentaes, phenomenos de paralysia (por exemplo a bufotenina de Phisalix e Bertrand) ou ao contrario, convulsões. Essas differentes substancias que quizeram isolar do veneno dos sapos europeus, são muito mal caracterizadas chimica e physiologicamente e deram motivo a numerosas controversias. Frequentemente as mesmas propriedades se encontram em gráos variaveis nas differentes fracções isoladas do veneno total; assim Gessner attribue á acção directa da bufotalina crystallizada de Wieland sobre o centro convulsivo da medulla alongada, as convulsões clonicas observadas no gyrino e na rã, e á uma acção reflexa as nauseas e os vomitos; porém verificou igualmente que uma outra fracção a bufotoxina de Wieland possue tambem propriedades convulsivantes.

A'fora as condições experimentaes muito diversas nas quaes se collocaram os differentes autores que abordaram essa questão, é preciso assignalar uma outra causa importante podendo modificar os seus resultados. Muitos, empregaram indifferentemente em seus trabalhos o veneno de diversas especies de sapos europeus (vulgaris, calamita, viridis). As pesquizas recentes de Gessner, os trabalhos antigos de Pugliese por exemplo, assignalaram entretanto, propriedades differentes para cada um desses venenos; assim o de *Bufo viridis* é hemolytico, ao contrario do de *Bufo vulgaris,* e possue a mais, uma acção narcotica e paralyzante que falta neste ultimo.

As propriedades do veneno da especie de sapo mais commum no Brazil, o *Bufo marinus,* foram menos estudadas e não deram logar a tantas discussões. A primeira referencia que encontramos na litteratura é de Marcgrave, assignalando que o sapo «cururú» torrado, reduzido a pó e misturado aos alimentos determina a morte por meio de violentas dôres, acompanhadas de inflammação da garganta, disturbios communs, dyspnéa, vomitos, diarrhéa, convulsões e delirio. Lacerda em 1878, encontrou esse veneno menos activo e muito differente do de *Bufo vulgaris* eu-

ropeu, concluindo que elle mata os animaes paralyzando o coração e poupando os musculos voluntarios, ao contrario do que disse Cl. Bernard do sapo europeu que paralysa os musculos voluntarios e poupa o coração: a gallinha apresenta symptomas de paralysia, uma ligeira rigidez muscular, acceleração do rythmo cardiaco, seguida de bradycardia; na lagartixa o coração continua a bater 20 minutos após a parada da respiração.

Em 1912, Abel e Macht attribuiram a acção desse veneno á duas substancias, uma a adrenalina, e outra physiologicamente analoga á digitalina. Novaro, em 1922 e 1923 publicou dois casos de intoxicação, nos quaes um mortal no homem: nos dois casos observou paresia dos membros inferiores acompanhada de ligeira rigidez da nuca, seguidas no caso mortal, de paralysia dos membros inferiores, de opisthotonos, de nauseas, convulsões, pulso a 130, mydriase, pupillas não reagindo mais á luz. Os animaes; cães, coelhos, cobayos, apresentam symptomas analogos, notando-se no inicio tachycardia e augmento da pressão arterial, seguida de bradycardia. Tem tambem uma acção vaso-constrictora que pode acarretar a morte por syncope; sobre o globo ocular provoca sensação de frio com ischemia, seguida de um periodo congestivo; dilata o olho enucleado da rã. Este autor conclue que o veneno de *Bufo marinus* deve a sua acção quasi toda á adrenalina e no entretanto provoca uma contractura generalizada do intestino isolado do coelho, o que está em desaccôrdo com essa substancia.

Vital Brasil, J. Vellard estudaram as propriedades geraes desse veneno. Em seguida Jayme Pereira verificou que esse veneno era paralyzante e convulsivante, sem acção curarizante, actuando directamente sobre os centros nervosos superiores. Augmenta ainda a contractilidade do musculo cardiaco, tendo uma acção bastante variavel sobre o rythmo desse orgão e a respiração. Conclue depois de diversas experiencias que o veneno de *Bufo marinus* não contem adrenalina. Gessner pensa que o teor em adrenalina é irregular e por isso não conseguio verificar a sua presença nesse veneno. Emfim, diversos trabalhos foram realizados sobre os venenos das especies japonezas e sobre a acção pharmacologica de um producto muito antigo e conhecido sob o nome de «*senso*» que contém uma proporção bastante grande de veneno de sapo. Segundo Kansho-Ryo por exemplo, o veneno dos sapos japonezes deve a sua acção a duas substancias: uma, soluvel no ether, paralyzando o coração e tendo uma acção inhibidora sobre o systema nervoso; a outra, insoluvel no ether, excitando o systema nervoso central e tendo uma acção sobre o musculo cardiaco semelhante á da adrenalina.

PRIMEIRA PARTE

Em todos os animaes, mammiferos, aves, reptis ou batrachios que nós estudamos, a injecção endo-vascular de veneno de *Bufo marinus* determina o apparecimento de symptomas muito uniformes.

Em seguida a uma injecção de uma dóse mortal, os animaes apresentam um periodo de agitação mais ou menos longo, depois de andar de um para outro lado apresentam tremores cada vez mais violentos; babam; os movimentos respiratorios se acceleram; frequentemente depois de uma phase muito curta de bradycardia, observa-se uma tachycardia consideravel. Muitas especies manifestam uma irritação anal muito accentuada, com defecações frequentes; depois esses effeitos são cada vez mais intensos, acompanhados muitas vezes de prolapso do recto.

A este primeiro periodo de agitações, succede uma phase de paresias e de paralysias progressivas com abolição da sensibilidade cutanea e dos reflexos. Todos esses phenomenos começam pelo trem posterior; a marcha torna-se a principio cada vez mais incerta; o trem posterior oscilla da direita para a esquerda; as extremidades das patas esfregam o solo. A seguir o animal cae. Convulsões tonicas de precocidade e intensidade variaveis, segundo a dose de veneno empregada, apparecem; a paralysia é então completa; a parte posterior é flacida, emquanto que se nota desde o principio uma ligeira hypertonia da parte anterior; as patas anteriores apresentam uma certa rigidez; o pescoço fica teso e rigido. A paralysia laryngéa é completa, o animal não póde mais gritar nem engulir; esse estado é acompanhado de abolição completa da sensibilidade tactil e thermica; é possivel cortar a cauda de um cão sem obter deste a menor manifestação dolorosa; essa anestesia caminha para a parte anterior e no ultimo periodo, os animaes não reagem mais á picada do nariz ou á queimadura com acidos ou ferro quente. Nesse ultimo periodo, a atonia muscular é completa; os movimentos respiratorios são cada vez mais espaçados e desapparecem definitivamente antes da parada do coração. A tachycardia inicialmente simples se complica de arythmia total; extrasystoles cada vez mais frequentes apparecem; enfim, o coração entra em fibrilação, entrecortado de raras extra-systoles até a parada final.

Por *via venosa,* a morte, mesmo com doses visinhas da dose minima mortal sobrevem quasi sempre muito rapidamente; naturalmente observamos algumas differenças entre as diversas especies de animaes sendo que as differenças individuaes em uma mesma especie são pouco sensiveis. Doses muito elevadas podem trazer a morte em poucos instantes e as differentes phases são muito abreviadas, tornando-se pouco nitidas.

As doses um pouco inferiores á dose minima mortal determinam symptomas extremamente graves, mas, os animaes se restabelecem depressa.

As injecções de doses fracas são seguidas sómente de symptomas muito ligeiros, principalmente de modificações do rythmo cardiaco.

A *via arterial* é tão severa quanto a via venosa, porém, os symptomas apparecem com um certo retardamento, facto aliás muito natural; no cão, a mesma dóse matando o animal em 3 minutos por via venosa, não mata por via arterial senão em 6 minutos.

A *via cardiaca* é um pouco mais rapida que as vias venosa e arterial, mas em todos os casos a dose minima mortal não é modificada.

PROTOCOLLOS

Cão

VIA VENOSA

a) Doses mortaes

1—*Cão 8 kilos (Exp. 51)*

Recebe ás 14 horas e 55' na veia, 15 millg. de veneno fresco em 2 c.c. de agua physiologica.

Durante 2', ficou immovel, babando; depois ensaia alguns passos cambaleantes; paresia posterior accentuada.

4'—Tremores generalizados; cáe no solo; as quatro patas rigidas; violenta crise de contracturas. Tachycardia. Respiração accelerada.

5'—Serie de convulsões tonicas generalisadas; paralysia laryngéa.

6'—Paralysia posterior flacida, acompanhada de anestesia completa; rigidez anterior com diminuição ligeira da sensibilidade; grande tachycardia e arythmia.

7'—Anesthesia geral thermica e tactil.

8'—Paralysia completa; fibrilação muscular; abolição dos reflexos.

9'—Fibrilação ventricular. Relaxamento dos esphincteres. MORTE.

2—*Cão 6 kilos (Exp. 78)*

Recebe por via venosa ás 15 horas e 31', 20 millg. de veneno fresco em 4 c.c. de agua physiologica.

Temperatura anal antes da injecção: —39°,2.

30"—Respiração extremamente rapida, ofegante; babando abundantemente.

1'—Tremores generalizados. Forte agitação. Irritação anal; o animal esfrega a região anal sobre o solo, faz esforços violentos para defecar.

1'—30" Paresia posterior tornando a marcha difficil; o trem posterior balança para a direita e para a esquerda.

3'—Deitado; tremor fibrilar na parte posterior do corpo acompanhadõ de ligeira hypertonia. O animal entra em uma phase de torpor.

5'—Fraca convulsão tonica. O animal se curva para um lado. Paralysia total, flacida, acompanhada de anestesia. Paralysia respiratoria; abolição de todos os reflexos. Expasmo do anus.

6'—Raros movimentos respiratorios muito espaçados; raras extrasystoles; fibrilação ventricular. MORTE.

Temperatura anal no momento da morte:—39°,3.

3—*Cão 4 kilos* (*Exp. 77*)

Recebe na veia 15 millg. de veneno fresco em 3 c.c. de agua physiologica.

30"—Agitação; tachycardia, tachypnéa.

1'—Paresia das quatro patas. O animal se deita.

2'—Bradypnéa accentuada, seguida de paralysia respiratoria; enorme tachycardia, Mydriase.

2'30"—Convulsões tonicas seguidas de paralysia total, flacidez posterior com uma ligeira hypertonia anterior. Anestesia total (tactil, thermica, acidos).

Numerosas extra-systoles e de quando em quando um esboço de movimento respiratorio.

4'—Fraca convulsão; relaxamento dos esphincteres; fibrilação ventricular.

4'-30"—MORTE.

4—*Cão 6 kilos* (*Exp. 52*)

Recebe 40 millg. de veneno fresco na saphena.

Convulsões tonicas muito violentas; immediatas, seguidas de relaxamento muscular generalizado (2 minutos) e morte em 2' e 20".

b) *Doses não mortaes*

5—*Cão 6-1/2 kilos* (*Exp. 82*)

Recebe ás 15 horas e 10', na veia, 10 millg. de veneno. Temperatura anal 39°,5.

1'—Forte agitação seguida de paresia posterior progressiva; salivação.

2'—O animal cáe bruscamente com fortes contracções tonicas. Bradycardia, respiração rapida, ofegante; anestesia posterior progressiva.

3'—Paralysia flacida dos membros posteriores com ligeira hypertonia dos membros anteriores; abolição quasi total da sensibilidade (thermica e tactil).

Reflexos oculares normaes. Paralysia laryngéa impedindo o animal de gritar.

4'—Violentas contracções generalizadas; vomitos, esforço para defecar; emissão espasmodica de urina; prolapso do recto. Grande tachycardia. Temperatura anal: —40°,5.

8'—O animal ensaia se levantar sem contudo poder; as patas anteriores são rigidas; o trem posterior é inerte. A anestesia persiste. A respiração é mais lenta e mais profunda.

13'—Consegue se manter em pé; paresia posterior porém ainda accentuada.

60'—Quasi normal, apenas com uma paresia posterior ainda notavel e uma grande diminuição da sensibilidade tactil e thermica, sobretudo accusada no trem posterior.

No dia seguinte: —Completamente normal.

VIA ARTERIAL

6—Cão 6-1/2 kilos (Exp. 54)

Recebe 40 millg. de veneno fresco na arteria femural.
2'—Tremores. Agitação.
3'—Paresia posterior. Quéda no solo.
4'—Primeiras convulsões.
7'—MORTE.

7—Cão 6 kilos (Exp. 55)

Recebe 40 millg. de veneno fresco na arteria femural.
2'—Tremores. Agitação.
3'-30"—Primeiras convulsões.
6'—MORTE.

Testemunhos

Cão 6 kilos (Exp. 52)

Recebe 40 millg. de veneno por via venosa. Morte em 2' e 30".

Cão 7 kilos (Exp. 53)

Recebe 40 millg. de veneno por via venosa. Morte em 3'.

VIA CARDIACA

8—*Cão 5 kilos (Exp. 6)*

Recebe 20 millg. de veneno em 3 c.c. de agua physiologica no ventriculo esquerdo. Tremores immediatos, convulsões e morte em 2'.

9—*Cão 7 kilos (Exp. 84)*

Recebe 15 millg. de veneno no ventriculo esquerdo.

Paresia posterior e tremores immediatos. Convulsão em 1' seguida de paralysia total, flacida no trem posterior, com ligeira hypertonia no trem anterior.

2'—Anestesia total; sómente persistem os reflexos oculares. Respiração ligeiramente accelerada. Tachycardia e arythmia.

10'—Esboço ligeiro de alguns movimentos das patas anteriores e do pescoço.

Tachycardia menos accentuada; desapparecimento da arythmia.

60'—Consegue se manter de pé e começa a caminhar.

Completamente normal 4 horas mais tarde.

Gato

Os symptomas são analogos aos já descriptos para o cão.

10—*Gato 450 grs. (nº 1)*

Recebe por injecção intra cardiaca 6 millg. de veneno fresco.

Convulsões tonicas immediatas, fibrilação ventricular, morte em 90".

11—*Gato 415 grs. (nº 2)*

Recebe por injecção intra cardiaca 2 millg. de veneno fresco.

Convulsões tonicas immediatas, seguidas de paralysia com ligeira rigidez muscular; ao fim de 3 minutos relaxamento muscular completo com abolição total da sensibilidade e dos reflexos; paralysia respiratoria, tachycardia com arythmia total, seguida de curtos periodos de fibrilação; parada definitiva do coração precedida de raras extra-systoles. Morte em 9'.

Coelho

Os symptomas apresentados pelo coelho, em seguida á injecção endovenosa de veneno de *Bufo marinus*, não differem no seu conjunto dos apresentados pelos outros animaes.

12—*Coelho nº 11*

Recebe por via venosa 7,5 millg. de veneno fresco em 2 c. c. de agua physiologica. O animal cae immediatamente com violentas convulsões tonicas, apresentando todo o corpo recurvado em arco; pupillas ligeiramente contrahidas. Morte em 1 minuto e 30 segundos.

13—*Coelho nº 21*

Recebe por via venosa 5 millg. de veneno fresco em 2 c.c. de agua physiologica. Convulsões tonicas immediatas; crise de tetania generalizada, opisthotonos. Morte em 3 minutos.

14—*Coelho nº 16*

Recebe por via venosa 1 millg. de veneno secco (igual a 3 millg. de veneno fresco) em 2 c.c. de agua physiologica. Paralysia immediata do trem posterior, se completando rapidamente; ligeira rigidez muscular. Respiração muito accelerada tornando-se em seguida lenta e muito profunda. Abolição dos reflexos tendinosos e da sensibilidade, sómente apresentando os reflexos oculares e a sensibilidade thermica e tactil do focinho, si bem que diminuidas. 70 minutos depois da injecção procura levantar-se. Normal em 12 horas.

Cavallo

O cavallo que servio para essa experiencia pertencia ao serviço de sôro anti-ophidico. No decurso da immunisação, apresentou, em seguida a um abcesso, symptomas de inicio de tetano. Aproveitamos então para sacrifical-o por meio de veneno de *Bufo marinus*.

15—*Cavallo 83 (de 7 a 8 annos—peso 400 kilos)*

Apresentou pela manhã ligeiros trismos e rigidez das patas.

A's 16 horas e 5', recebeu por via venosa (jugular) 100 millg. de veneno fresco em 250 c.c. de agua physiologica.

1'—Baba abundante; grande tachycardia com extra-systoles frequentes.

2'—Cae. Contracções tonicas generalizadas; violentas convulsões; opisthotonos; rigidez absoluta; grande arythmia.

3'-30"—Fica inerte, flacidez muscular geral; relaxamento dos esphincteres.

4'—Abolição de todos os reflexos. De quando em quando, uma ligeira inspiração cada vez mais fracas e espaçadas; fibrilação ventricular com raras extrasystoles.

5'—Fibrilação das palpebras, dos labios e dos musculos faciaes.

5'-30"—MORTE.

Pombo

Em seguida á injecção endo-venosa de veneno de *Bufo marinus*, o pombo apresenta violentas convulsões tonicas; a cauda fica estendida em leque, as azas abertas, o pescoço voltado para traz, as patas esticadas, rigidas; lógo após se produz a resolução muscular e o animal morre. As dóses inferiores á mortal determinam sómente convulsões tonicas mais ou menos fortes, porém de curta duração e crises de contracturas que desapparecem rapidamente.

16—*Pombo 19*

Recebe por via venosa 0,5 millg. de veneno secco (1,5 millg. de veneno fresco). Paralysia immediata com opisthotonos; convulsões tonicas violentas; morte em 2'.

17—*Pombo 88*

Recebe 2,5 millg. de veneno fresco por via venosa; immediatamente a cabeça volta-se para tráz tendo as azas abertas e a cauda em leque; rola diversas vezes sobre si mesmo e morte em 50".

18—*Pombo 141*

Recebe por via venosa 1 millg. de veneno fresco ás 13 horas e 9". Em seguida á injecção fica cambaleante; contractura das patas impedindo que se mantenha de pé; tosse, acompanhada de expulsão violenta dos alimentos; esforço cada vez mais forte para vomitar. Hypersecreção nasal muito accentuada; respiração muito accelerada. A's 13 horas e 15 minutos começa a se manter sobre suas patas mas não consegue voar. A's 14 horas não apresenta senão uma ligeira paresia. Completamente restabelecido ás 17 horas.

19—*Pombo 142*

Recebe por via venosa 0,3 millg. de veneno fresco. Apresenta uma ligeira paresia durante meia hora.

Ophidios

A maioria dos ophidios é muito sensivel ao veneno do *Bufo marinus*; mas a difficuldade de praticar injecções endo-venosas nesses animaes não nos permittio estudar, em detalhe, a acção do veneno por essa via.

20—*Rhadinea Merremii* (*Colubridae*) (*Exp. 11*)

Depois da incisão da parede ventral, 6 millg. de veneno fresco são injectados directamente na veia cava. Forte agitação immediata do animal.

3'—Depois da injecção, violentas convulsões seguidas de paresia progressiva inicialmente posterior; tachycardia.

5'—Paralysia quasi completa.

7'—MORTE.

A via de escolha para estudo do veneno de Bufo nos ophidios é a gastrica ou a via tracheal, sobre as quaes nos reportaremos.

Batrachios

Algumas especies de batrachios são muito sensiveis ao veneno de sapo; o proprio *Bufo marinus* si bem que um pouco mais resistente do que os outros está longe de apresentar uma verdadeira immunidade. Nenhum anticorpo existe no seu sôro, e contrariamente ao que se observa com os outros animaes venenosos, a dóse mortal para o *Bufo marinus* é muito inferior á quantidade total de veneno que podemos extrahir das suas glandulas. Os symptomas observados nos batrachios em seguida á injecção endo-venosa de veneno de *Bufo marinus*, se distinguem principalmente dos descriptos precedentemente, pela pouca intensidade dos phenomenos convulsivos. A morte é rapida no *Leptodactylus* e ao contrario muito lenta nas diversas especies de *Bufo*.

21—*Leptodactylus occellatus* (*Exp. 85*)

Recebe na veia femural 5 millg. de veneno de *Bufo marinus*.

2'—Depois da injecção, contracções musculares frequentes das patas posteriores.

5'—Notavel paresia posterior augmentando progressivamente a ponto de tornar a marcha impossivel. A paralysia se completa em seguida, rapidamente.

12'—Morte.

22—*Bufo crucifer—adulto—macho* (*Exp. 86*)

Recebe ás 16 horas e 12', numa veia superficial do abdomen, 25 millg. de veneno fresco.

3'—Paresia posterior, com algumas contracções musculares das patas.

6'—Paralysia posterior total com anestesia.

18'—Completamente paralytico; raros movimentos de deglutição. Sómente o coração continua a bater muito lentamente.

48'—MORTE.

23—*Bufo marinus—adulto—macho* (*Exp. 87*)

Recebe ás 15 horas e 55', numa veia superficial do abdomen, 40 millg. de veneno fresco de *Bufo marinus*.

16 horas e 45'—Ligeira paresia posterior.

17 horas e 15'—Paralysia posterior.

20 horas e 00'—Completamente paralytico; sómente o coração continua a bater. Morte no terceiro dia, nesse estado. Quando nós estudarmos a acção das dóses fraccionadas de veneno, veremos que por via venosa, 200 millg. são necessarios para matar o proprio *Bufo marinus* em alguns minutos.

ACÇÃO DO VENENO POR VIA SUB-CUTANEA OU INTRAMUSCULAR

As injecções sub-cutaneas ou intramusculares de dóses fracas de veneno de *Bufo marinus*, determinam em todos os animaes uma reacção local muito intensa; pouco tempo depois da injecção apparece o edema, tornando-se rapidamente volumoso; no dia seguinte, toda a região é transformada em um fóco de necrose intensa, fétida. Quasi sempre os animaes succumbem em alguns dias em virtude de complicações secundarias; infecção ou lesão de um grande vaso.

Essa acção local não póde ser attribuida á contaminação das soluções de veneno por germes provindos da pelle do *Bufo marinus* no momento da extracção do veneno, contaminação que se produz frequentemente com as soluções conservadas durante varios dias. *As soluções esterelizadas no autoclave, logo em seguida ao seu preparo (30' a 120°C.).*

possuem as mesmas propriedades necrosantes que as soluções frescas. Com doses massiças de veneno os symptomas geraes e habituaes apparecem: paralysia progressiva, a principio posterior, acceleração notavel do rythmo respiratorio no inicio e seguida depois de bradypnéa e em uma phase mais adiantada paralysia respiratoria. A morte póde sobrevir em 10 a 15' no cobayo, com 15 millg. de veneno. Os animaes de sangue frio apresentam os mesmos symptomas que por via venosa. A morte é muito rapida. Algumas especies apresentam egualmente necroses locaes, porém são em geral mais difficeis de obter que nos mammiferos ou aves em vista da grande sensibilidade da maioria desses animaes que succumbem com doses inferiores a 1 millg. O sapo, sendo um pouco menos sensivel á acção geral de seu proprio veneno, se presta muito bem para essa prova:

24—*Bufo marinus—adulto—femea—180 grs.* (*Exp. 101*)

O veneno de uma das paratoides é em parte retirado de uma glandula, em seguida applicado sobre a pelle escarificada da região lombar do mesmo animal, ás 14 horas e 10 minutos.

14 horas e 30'—Paralysia posterior com anestesia tactil e thermica na metade das patas posteriores.

14 horas e 50'—Paralysia e anesthesia posteriores totaes; ligeira contractura das patas anteriores.

A's 17 horas—A motilidade começa a reapparecer; fortemente excitado o animal consegue se deslocar; o ponto de escarificação é ligeiramente tumefacto e sangrante.

No dia seguinte, paresia posterior com ligeira diminuição da sensibilidade; o animal começa a dar alguns saltos. A pelle da região lombar, em uma superficie de 10 a 12 centimetros quadrados é mortificada, esbranquiçada e toda a região é infiltrada de um edema sangrante e fétido. Morte em 35 horas. A mesma experiencia, feita em um *Bufo crucifer* não provocou senão uma ligeira tumefacção local e o animal morreu em 3 horas.

Os invertebrados são igualmente sensiveis ao veneno de *Bufo marinus,* administrado por via sub-cutanea:

25—*Lagosta de agua doce—44 grammas* (*Exp. 103*)

Recebe 5 millg. de veneno fresco, injectado entre o segundo e o terceiro annel da cauda. Logo depois da injecção ligeira agitação seguida de paresia.

3'—Patas, pinças e antenas são agitadas com tremores e contracções convulsivas.

5'—Contracções tonicas violentas e generalizadas.

7'—MORTE.

26—*Carangueijo—39 grs. (Exp. 104)*

Recebe 2,5 millg. de veneno fresco injectado ao nivel da primeira articulação coxal.

5'—Ligeira agitação seguida de tremores generalizados.

6'—Paresia; incertitude e lentidão dos movimentos de defeza (pinça) reflexos oculares conservados.

7'—Contracções tonicas violentas das patas posteriores.

8'—Paralysia total.

13'—Todos os reflexos de defeza são abolidos; os reflexos oculares sómente persistem de um modo fraco.

16'—MORTE.

ACÇÃO DO VENENO DEPOSITADO SOBRE AS MUCOSAS

O veneno em solução ou em estado fresco, depositado sobre as mucosas ocular, nasal ou buccal determina a principio uma forte ischemia local acompanhada de uma sensação dolorosa de queimadura mais ou menos intensa segundo a mucosa. Esta primeira phase é seguida um pouco mais tarde de uma congestão local intensa com lacrimejamento, salivação ou hypersecreção muito fortes segundo a mucosa em experiencia. Além dessa acção local, apparecem muito rapidamente phenomenos nervosos intensos, comparaveis no seu conjuncto áquelles que já descrevemos nas outras vias: periodo de excitação violento com convulsões tonicas e tetanismo seguido de paralysia progressiva. A rapidez com a qual apparecem esses phenomenos nervosos, sua intensidade e as fracas doses necessarias para os provocar caracterizam a acção do veneno por essa via.

A absorpção do veneno é igualmente rapida quando introduzido directamente no estomago com uma sonda, para evitar o contacto com a mucosa buccal.

In vitro, elle não é destruido nem pelo succo gastrico, nem pelo acido chloridrico. Por via rectal a absorpção é um pouco mais lenta e os symptomas de um e outro caso são identicos aos observados pelas outras vias. Vejamos um certo numero de protocollos afim de illustrar esses factos:

VIA OCULAR

27—*Coelho 1.500 grs. (Exp. 105)*

Recebe ás 16 horas sobre o globo ocular esquerdo uma pequena quantidade de veneno fresco, pastoso.

16 horas e 10'—Ligeira paresia, tornando a marcha incerta.

16 horas e 15'—Paresia lateral accentuada de todo o lado esquerdo.

16 horas e 30'—Paralysia quasi que completa do lado esquerdo; o animal querendo marchar cae sempre desse lado, as duas patas se afastam do corpo, incapazes de o sustentar.

16 horas e 45'—Paresia accentuada da pata posterior direita.

17 horas e 00'—A paresia attinge a pata anterior direita, a unica com a qual o animal podia ainda se sustentar.

17 horas e 15'—Paralysia completa; patas anteriores distendidas e afastadas, molle; cahido sobre o solo; patas posteriores rigidas e esticadas para a frente.

17 horas e 30'—Paralysia flacida total; o animal é completamente inerte; relaxamento dos esphincteres anaes e urethraes; tachycardia muito acccentuada (160-170) com arythmia e raras extra-systoles. Respiração muito lenta e irregular com pausas cada vez maiores.

17 horas e 45'—Morte em uma forte convulsão.

28—*Coelho 1235 grs. (Exp. 40)*

Recebe ás 10 horas um pouco de veneno fresco, pastoso, sobre o globo ocular esquerdo.

10 horas e 45'—Myoses á esquerda; ligeira paresia; respiração accelerada.

11 horas e 00'—Hemiplegia esquerda completa, o animal cae sempre desse lado.

12 horas e 00'—Paralysia generalizada, diurése abundante.

14 horas e 00'—Procura ás vezes se levantar.

16 horas e 00'—Ligeira paresia.

No dia seguinte, edema de toda a região ocular esquerda; cornea opaca e sem brilho; no outro dia, estado geral bom; conjunctivite e keratite intensas; no 4º dia depois da applicação do veneno, perfuração da cornea. Panophtalmia. Morte no 5º dia.

VIA NASAL

29—*Coelho 1.000 grs. (Exp. 59)*

Recebe um pouco de veneno fresco, pastoso, na narina direita.
35'—Depois da applicação, hemiplegia do lado opposto.
45'—Paralysia completa, ligeiro edema local.
75'—MORTE.

VIA BUCCAL

As experiencias por via buccal são menos rigorosas que as precedentes, em virtude de uma parte do veneno ser deglutido e absorvido por via estomacal.

30—*Camaleão—20 cent. de comprimento (Exp. 111)*

Recebe um pouco de veneno pastoso, na bocca. Ligeira excitação immediata; o animal procura se desembaraçar do veneno.

3'—Paresia progressiva das patas posteriores.

6'—Paralysia total, o animal é completamente inerte, apneico; este estado perdura durante 3' sem modificação, o cameleão, parece morto, bruscamente surge uma crise violenta de tetanismo, o corpo se dobra em arco, a cabeça e a cauda se elevam, as quatro patas levantadas, rigidas com os dedos afastados; tres crises mais ou menos se succedem com alguns segundos de intervallo e em seguida o animal cae inerte com as quatro patas extendidas para traz e ao longo do corpo e morre nessa situação em 10'.

31—*Lagartixa (Gecko) 15 cent. de comprimento (Exp. 112)*

Recebe um pouco de veneno fresco e pastoso na bocca.
Ligeira excitação immediata.
30"—Respiração lenta e muito profunda.
2'—Respiração muito profunda, irregular com duas ou tres inspirações successivas, seguidas de longas pausas.
3'—A marcha torna-se difficil.
3'-30"—Paralysia e anesthesia da metade posterior do corpo.
4'—Immobilidade completa, paralysia e anesthesia geraes.
4'-30"—Convulsões tonicas violentas, corpo dobrado em arco, patas distendidas, cauda levantada.
5'—Relaxamento muscular e morte.

As serpentes são tambem muito sensiveis ao veneno depositado sobre a mucosa buccal.

32—*Lachesis jararaca—adulta—80 cent. comprimento* (*Exp. 113*)

Obrigada a morder um *Bufo marinus*, apresenta os mesmos symptomas que as largatixas e morre em geral no espaço de 40 a 50'; o sapo pouco sensivel á acção do veneno de *Lachesis* não apresenta geralmente nenhum accidente. Doses de 1 a 2 millg. depositadas na bocca de *Lachesis* e *Crotalus* (30 a 40 cent. de comprimento) as matam em 4 a 5 minutos.

33—*Cão de 3 mezes—730 grs.* (*Exp. 114*)

Recebe 100 millg. de veneno fresco e pastoso na bocca. Em seguida, apresenta salivação abundante com vomitos.

4'—Paralysia completa, tetanismo, opisthotonos, gritos se enfraquecendo pouco a pouco.

8'—Completamente inerte; parada da respiração; intensa tachycardia.

11'—Convulsões fracas e o coração entra em fibrilação.

12'—MORTE.

VIA GASTRICA

As experiencias por esta via sendo feitas com soluções bem dosadas, os resultados são mais significativos.

34—*Crotalus terrificus—40 cent. comprimento* (*Exp. 115*)

Recebe 1 millg. de veneno, introduzido por meio de uma pipeta.

Agitação convulsiva muito violenta; o animal regeita uma parte do veneno.

2'—Paresia inicialmente posterior.

3'—Paralysia total.

4'—Convulsões tonicas intensas; o animal torce-se sobre si mesmo e em seguida fica immovel, entortilhado; o relaxamento muscular apparece.

5'—MORTE.

35—*Crotalus terrificus—40 cent. comprimento* (*Exp. 116*)

Recebe 0,5 millg. de veneno por via gastrica. Mesmos symptomas e morte em 5'.

36—*Crotalus terrificus—40 cent. comprimento* (*Exp. 117*)

Agitação violenta em 5', seguida de paralysia progressiva.
60'—Começa a melhorar.
Normal em 2 horas.

37—*Lachesis jararaca—adulta—75 cent. compr.* (*Exp. 118*)

Recebe por via gastrica 25 millg. de veneno em 1 c.c. de agua distillada.
2'—Agitação violenta.
3'—Começo de paresia.
10'—Convulsões tonicas violentas.
15'—MORTE.

38—*Lachesis jararaca—adulta—95 cent. compr.* (*Exp. 119*)

Recebe 12 millg. de veneno por via gastrica.
2'—Forte agitação seguida de paralysia progressiva; convulsões tonicas violentas em 12', seguidas de um estado de morte apparente; porém, o coração só para ao fim de 25'.

39—*Pombo* (*Exp. 12*)

Recebe 10 millg. de veneno em 0,5 c.c. de agua distillada por via gastrica.
5'—Agitação violenta, vomitos.
8'—Começo de paralysia.
10'—Convulsões tonicas muito violentas; opisthotonos.
17'—MORTE.

40—*Pombo* (*Exp. 16*)

Recebe 5 millg. de veneno por via gastrica.
12'—Convulsões tonicas e opisthotonos.
47'—Paralytico.
66'—MORTE.

41—*Coelho* (*Exp. 33*)

Recebe depois de um jejum de um dia para outro, 100 millg. de veneno por via gastrica.
1'—Paresia.
2'—Paralysia posterior.

3'—Tetraplegia com grande hypersecreção nasal.
5'—Convulsões tonicas, opisthotonos.
7'—MORTE.

42—*Gato (Exp. 120)*

Recebe 20 millg. de veneno fresco por via gastrica. Vomitos quasi que immediatos.

18'—Serie de crises convulsivas; o animal fica distendido sobre um lado com o corpo em arco, agitado por tremores; entre as crises se levanta e marcha um pouco titubeante; as crises se repetem cada vez mais e em seguida a paralysia se estabelece, a principio do trem posterior, depois ganha as patas anteriores no momento da morte, novas crises tetaniformes intensas, gritos e morte em 135 minutos.

OUTRAS VIAS

Por via rectal a acção do veneno é um pouco mais lenta (gato); a via tracheal (serpente, cães) é quasi tão severa quanto a via venosa.

Peixes collocados em agua addicionada de algumas gottas de veneno, morrem rapidamente:

43—*Barrigudinho (Gyrardinus) Exp. 121*

Tres barrigudinhos são collocados em um vaso contendo uma solução a 1°/°° de veneno fresco em agua da bica.

3'—Agitação intensa dos peixes que nadam para todos os lados.

4'—O maior apresenta convulsões e fluctua com o ventre para cima; um segundo é quasi que inteiramente paralytico.

6'—Os tres peixes apresentam-se completamente inertes, boiando na superficie e voltados para cima.

8'—O maior apresenta convulsões violentas.

10'—Os dois outros apresentam igualmente convulsões tonicas intensas e em seguida fluctuam. MORTE.

44—*Peixe vermelho (Exp. 122)*

Collocado em um frasco contendo solução de veneno a 1°/°° em agua, apresenta ao fim de 5' forte agitação sendo o seu corpo percorrido por movimentos convulsivos.

10'—Convulsões tonicas. A cauda se dobra e se movimenta com violencia; as nadadeiras são agitadas por movimentos discordantes.

12'—O peixe vem fluctuar inerte na superficie e com a bocca aberta.

25'—Convulsões bruscas, salta fóra d'agua.

27'—MORTE.

———

Rãs e pererecas, collocadas em soluções diluidas de veneno, ou sobre as quaes depositamos algumas gottas de solução concentrada, apresentam rapidamente uma paralysia inicialmente posterior, não podendo mais saltar e morrem em seguida completamente paralyticas.

SEGUNDA PARTE

ACÇÃO DIRECTA SOBRE OS CENTROS NERVOSOS

As experiencias que vimos de referir mostrando a grande affinidade do veneno de *Bufo marinus* para os centros nervosos, nos levaram a estudar algumas particularidades dessa acção.

PENETRAÇÃO PELOS FILETES NERVOSOS

A marcha dos symptomas quando o veneno é depositado sobre a mucosa ocular (geralmente: hemiplegia do lado correspondente ao que foi depositado o veneno) e a mucosa nasal (frequentemente: hemiplegia cruzada), bem como a sua progressão nos conduziram, a principio, á hypothese da absorpção do veneno pelos filetes nervosos. Para verificar esse facto, ligamos as patas de varias rãs (*Leptodactylus occelatus* e *pentadactylus*) com exclusão do sciatico, e injectamos na extremidade do membro uma dose massiça de veneno; os animaes não apresentaram nenhum symptoma, emquanto que, os testemunhos normaes succumbiram rapidamente com a mesma quantidade de veneno. Os mesmos resultados negativos tivemos, dissecando o sciatico da *pentadactylus* e collocando na extremidade uma solução concentrada de veneno:

45—*Leptodactylus occelatus, adulto—80 grs.*

Recebe ás 14 horas e 14', na extremidade da pata esquerda, 10 millg. de veneno; uma forte ligadura, excluindo o sciatico foi feita sobre a coxa.

A's 17 horas—Nenhum symptoma.

A's 17-8'—Recebe na outra perna, não isolada, a mesma dose de veneno.

8'—Paralytico.

15'—Abolição completa da motilidade, da sensibilidade e dos reflexos, sómente batendo o coração.

Morte ás 18 horas e 30'.

Testemunho

Leptodactylus occelatus—75 grs.

Recebe 10 millg. de veneno em uma perna não isolada; ás 14 e 30'. Ao fim de 6' estava paralytica e morreu ao fim de 58'.

Este resultado tendo sido confirmado em todas as nossas experiencias, a hypothese de uma penetração pelos filetes nervosos deve ser abandonada. A rapidez com que apparecem os symptomas geraes, em seguida á injecção de veneno ou á deposição sobre uma mucosa, reforça bem essa opinião.

ACÇÃO DIRECTA SOBRE OS CENTROS NERVOSOS

A acção do veneno se exercendo directamente sobre os centros nervosos, ensaiamos diversas vias de introducção: racheana baixa, via racheana alta, ventriculo cerebral. Os symptomas observados foram muito interessantes: a principio, symptomas locaes devidos a acção do veneno sobre os elementos nervosos no ponto da inoculação; em seguida, com doses elevadas, symptomas geraes (cardiacos, respiratorios, etc.) de intensidade variaveis. Segundo o ponto da injecção a acção local do veneno se traduz por symptomas differentes, nos quaes se encontram sempre as duas phases habituaes de excitação inicial seguida de paralysia; esses symptomas apparecem mesmo com pequenas doses de veneno e nesses casos o seu desapparecimento completo é bastante rapido. Com doses elevadas, visinhas da dose mortal, os symptomas locaes persistem durante varios dias, porém os animaes podem se restabelecer, salvo, em alguns casos onde a morte sobrevem em seguida a disturbios visceraes secundarios (paralysia, edema pulmonar, etc.).

Com essas doses elevadas de veneno, apparecem, além dos symptomas já descriptos acima, symptomas geraes perfeitamente identicos aos observados por via vascular.

VIA RACHEANA

Qualquer que seja a altura da injecção, o animal manifesta muito rapidamente uma irritação e uma dôr local muito intensa, procurando arrastar e morder a região posterior, abaixo do ponto da injecção; depois,

essa dôr se extende e o animal furioso rola, mordendo-se com raiva. Quando a injecção é feita ao nivel das vertebras lombares, a irritação ganha a principio a região anal e genital (o animal afasta as patas, faz esforços constantes para urinar e defecar, esfrega o anus sobre o solo) depois a extremidade da cauda e das patas; alguns animaes se mordem tanto que chegam a produzir sangue. A hypertonia muscular accentua-se em toda a região posterior ao ponto da injecção acompanhada de hyperesthesia muito forte (o menor toque no animal, determina crises violentas de dôr e furia) e de augmento de todos os reflexos; a rigidez do trem posterior é completa, a marcha torna-se impossivel; o animal fica immovel, as patas posteriores se afastam para poder se sustentar e em seguida cáe.

O animal entra no segundo periodo: paralysia flacida, diminuição e depois abolição da motilidade, dos reflexos, da sensibilidade superficial e profunda (thermica, tactil, etc.), vaso dilatação intensa (muitas vezes o penis fica completamente relaxado); é o quadro completo da secção medullar. A parte anterior do corpo, acima da injecção, apresenta ao contrario, phenomenos de excitação: rigidez muscular, tremores continuos, as duas patas anteriores ficam esticadas rigidas, sem poder ser dobradas; pescoço recurvado; hyperesthesia notavel no inicio, e em seguida os symptomas se completam, o animal faz esforços para gritar, a paralysia laryngéa e pharyngéa tornam-se totaes, a phonação e a deglutição tornam-se impossiveis; os reflexos desapparecem, com excepção dos corneanos e pupillares. Essa parte anterior do corpo completamente tetanizada, em contraste com a parte posterior que é flacida. Quando a dóse injectada não é sufficiente para acarretar a morte, os animaes, após um tempo variavel, de 1 a 2 horas em geral, começam a melhorar, a rigidez anterior diminue, as patas se curvam por momentos, o pescoço dobra, depois sobrevem novas crises de rigidez; emfim o animal póde se levantar apesar da hypertonia anterior sempre notavel. O aspecto então é caracteristico: o corpo fica apoiado sobre as duas patas anteriores, o pescoço é ainda esticado; toda a parte posterior do corpo é ao contrario inerte, as patas completamente abertas, o abdomen apoiado sobre o solo, sem motilidade, insensivel e sem reflexos. Essas duas regiões: anterior e posterior, são nitidamente delimitadas na altura da injecção; a parte anterior é contrahida, e arqueada em consequencia da hypertonia que ainda persiste e do esforço necessario para sustentar a parte posterior; o animal á primeira vista, parece seccionado em duas porções.

Este estado pode persistir durante varios dias; 24 horas depois os phenomenos de excitação anterior geralmente desapparecem, mas a paralysia posterior persiste sem modificação durante 4 a 5 dias. A paralysia

dos esphincteres provoca a principio uma retenção absoluta da urina e das fezes, depois tardiamente a urina começa a correr gotta a gotta, emquanto que o esphincter anal é completamente relaxado. Alguns animaes succumbem nesse periodo, em seguida á intoxicação pela retenção da urina na bexiga. Logo após esse estado se attenua pouco a pouco e o animal se restabelece inteiramente.

Quando a dose de veneno é forte, os symptomas se succedem rapidamente, depois apparecem disturbios respiratorios e cardiacos habituaes e os animaes succumbem em poucos minutos entre violentas convulsões tonicas.

PROTOCOLLOS

RACHE LOMBAR

46—Cão macho, 6.700 grs. (Exp. 79)

Recebe ás 15 horas e 55', 10 millg. de veneno fresco em 2 c.c. de agua physiologica, ao nivel da 4ª. vertebra lombar. Excitação immediata; o animal corre para todos os lados, gritando, depois para, as patas anteriores rigidas e afastadas, morde as patas posteriores, a extremidade da cauda e a região anal; rola sobre o solo procurando esfregar a região anal e perineal.

2'—Depois da injecção, a paralysia augmenta e o trem posterior torna-se flacido, emquanto apparece uma ligeira hypertonia da parte anterior do corpo.

Tachycardia e respiração muito accelerada.

3'—Cáe; paralysia posterior flacida, completa, com abolição total dos reflexos e da sensibilidade (tactil e thermica) superficial e profunda; erecção permanente do penis. Paralysia anterior completa, com hypertonia, opisthotonos, as patas estiradas, rigidas, resistindo á flexão, ligeira hyperesthesia da cabeça, paralysia laryngéa; apezar de grandes esforços o animal não pode mais ladrar.

4'—Abolição geral da sensibilidade, dos reflexos (menos o corneano) e da motilidade; rigidez anterior e flacidez posterior, enorme bradycardia; phase de apnéa durante 5'; myoses; a bocca é aberta, a lingua pendente; ischemia das mucosas nasal e buccal.

8'—Alguns movimentos de inspiração, seguidos de uma nova phase de apnéa, mais curta que a precedente. 90' depois da injecção, começa a mexer com a cabeça, mas a rigidez do trem anterior continua. No dia seguinte: a parte posterior do corpo, abaixo da injecção, está completamente inerte, insensivel; relaxamento total dos esphincteres; a urina

corre gotta a gotta, e incontinencia das materias fecaes. A parte anterior do corpo apresenta ainda uma certa paresia com ligeira rigidez; diminuição da sensibilidade; os reflexos são presentes, a deglutição impossivel. Mesmo estado no 2º dia da injecção; sem albumina e glycose na urina. No 3º dia a deglutição era ainda impossivel; retenção de urina completa. Morte 80 horas depois da injecção. Na autopsia: pulmões, principalmente o direito com grandes fócos hemorrhagicos; coração normal; o tubo digestivo apresentava-se vasio e sem lesão; bexiga contendo 250 c.c. de urina com albumina e traços de glycose.

47—Cão macho 5.400 grs. (Exp. 60)

Recebe 10 millg. de veneno fresco em 1 c.c. de solução physiologica entre a 3ª. e a 4ª. vertebra lombares. Dôres immediatas muito violentas; excitação da região perineal; morde as suas patas, a cauda, lambe a região anal e o penis.

2'—Contracções generalizadas.

3'—Paralysia posterior flacida se estabelece; trem anterior tetanizado.

4'—Violenta phase de excitação; o animal se mantém sobre suas patas dianteiras, rigidas, pescoço esticado, se esforça para gritar mas pouco a pouco a voz se extingue; morde a corrente, o solo, sangrando a sua bocca; dá alguns passos arrastando o trem posterior que é inerte, sobre o solo, com as patas completamente abertas.

6'—Extendido no chão completamente inerte; as patas anteriores e pescoço tetanizados, motilidade e sensibilidade completamente abolidas, sómente persistindo os reflexos corneanos e pupillares; a cauda do animal é seccionada sem que o mesmo manifeste qualquer dôr.

8'—Abolição de todos os reflexos. Apnéa. Tachycardia e arythmia total.

10'—O coração entra em fibrilação. Morte sem convulsões.

48—Cão macho, 4.300 grs. (Exp. 57)

Recebe 20 millg. de veneno fresco em 2 c.c. de agua physiologica entre a 3ª. e a 4ª. vertebras lombares. Dôr violenta immediata, seguida de contracturas generalizadas (1'); paralysia posterior flacida (1'-30"); paralysia anterior com rigidez e abolição de todos os reflexos, da sensibilidade e da motilidade (2'); morte em 2'-30" depois de uma crise de soluços.

49—*Cão macho, 6.000 grs. (Exp. 58)*

Recebe ás 15 horas e 11', 5 millg. de veneno fresco em 1 c.c. de solução physiologica, entre a 3ª. e a 4ª. vetebras lombares. Dôres immediatas violentas; morde suas patas posteriores e a cauda; irritação da região perineal.

1'—Paresia posterior, obrigando a afastar as patas para assegurar o equilibrio.

1'-30"—Contracções generalizadas.

4'—Paralysia posterior flacida com abolição da sensibilidade e dos reflexos, parte anterior do corpo tetanizada, com hyperesthesia accentuada; paralysia laryngéa; bradypnéa; bradycardia e arythmia.

Esse estado persiste até as 16-30'; a contracção anterior cessa por momentos e o animal procura se levantar. Rythmo cardiaco e respiratorio normaes. A's 17-30' consegue se levantar e se sustentar com suas patas anteriores, que são ainda esticadas, ficando o seu trem posterior sempre inerte. No dia seguinte pela manhã não restava senão uma ligeira paresia posterior que desappareceu no correr do dia.

RACHE DORSAL

Os symptomas são exactamente os mesmos que aquelles descriptos e observados quando injectado o veneno por via lombar; porém a paralysia começa na altura da injecção, faz cahir o animal mais rapidamente, e este não pode se sustentar sómente sobre as duas patas anteriores, mesmo afastando-as no seu maximo. A irritação posterior, da parte anal, das patas e cauda é pouco accentuada.

50—*Cão macho, 7.100 grs. (Exp. 72)*

Recebe 20 millg. de veneno fresco entre a 6ª. e a 7ª. vertebras dorsaes. Excitação geral pouco accentuada.

1'—Cae como um bloco sobre o solo apresentando contracções generalizadas.

1'-30"—Começo de paralysia posterior flacida abaixo do ponto da injecção, com abolição da sensibilidade e dos reflexos. Ligeira hyperesthesia anterior.

2'-30"—Paralysia posterior flacida e completa; parte anterior do corpo tetanizada. Paralysia laryngéa.

3' —Morte depois de uma crise de soluços.

51—*Cão macho, 5.200 grs.* (*Exp. 68*)

Recebe 5 millg. de veneno fresco em 1 c.c. de solução physiologica entre a 10ª. e a 11ª. vertebras dorsaes. Não ha manifestação inicial de dôr nem de irritação; a respiração é accelerada.

5'—Paresia geral.

6'—Violenta crise de convulsões tonicas generalizadas, seguida de paralysia flacida posterior, para baixo do ponto da injecção com rigidez anterior.

12'—Abolição total da motilidade, da sensibilidade e dos reflexos do trem posterior, ligeira hyperesthesia anterior; começo de movimentação das patas anteriores e da cabeça 1 hora e 1/2 depois da injecção, porém a paralysia posterior sóbe até a 10ª. dorsal, não permittindo que elle se levante; no dia seguinte, ligeira paresia posterior; restabelecimento completo em 48 horas.

RACHE CERVICAL

A injecção entre a 3ª. e a 4ª. vertebras cervicaes determina paresia das quatro patas, seguida de tetraplegia flacida. As quatro patas se afastam; a parte anterior do corpo é rigida; a paralysia laryngéa é precoce.

52—*Cão macho, 6.200 grs.* (*Exp. 71*)

Recebe 20 millg. de veneno fresco em 1 c.c. de solução physiologica entre a 3ª. e a 4ª. cervical. Em 1' cae paralytico das quatro patas.

2'—Tetraplegico; arythmia total, patas flacidas, pescoço rigido, paralysia laryngéa.

4'—MORTE.

53—*Cão macho, 5.100 grs.* (*Exp. 69*)

Recebe 5 millg. de veneno fresco em 1 c.c. de sôro physiologico entre a 3ª. e a 4ª. cervical. Em 1' paresia anterior, bradypnéa.

6'—Paresia geral muito accentuada, respiração soprante, rapida.

8'—Agitação violenta, gritos; a voz se extingue pouco a pouco apezar dos esforços do animal.

15'—Tetraplegico; as patas são molles e afastadas do corpo; o pescoço é duro; a cabeça estirada sobre o solo; os reflexos palpebraes e corneanos presentes.

24 hs. Paresia muito accentuada das patas anteriores e posteriores, acompanhada de tremores. Restabelecido em 48 horas.

VENTRICULO CEREBRAL

A injecção de veneno de *Bufo marinus* no ventriculo cerebral, determina, além da paralysia e da anesthesia rapida de todo o corpo, symptomas respiratorios e cardiacos intensos devidos á acção directa do veneno sobre os centros bulbares. Em muitos animaes observa-se um periodo de polypnéa intensa seguida de diminuição dos movimentos respiratorios, com periodos de apnéa mais ou menos longos ou de paralysia respiratoria definitiva. Um cão, tendo recebido 5 millg. de veneno depois de um periodo de excitação violenta, apresentou um silencio respiratorio absoluto; depois de alguns esboços de movimentos respiratorios, a paralysia respiratoria tornou-se completa até a morte que se deu 27' depois da injecção. A tachycardia, com numerosas extrasystoles, é curta, seguida de bradycardia consideravel. Frequentemente uma baba sanguinolenta e abundante escorre da bocca do animal. Pela autopsia encontram-se quasi sempre lesões de edema agudo do pulmão com forte hemorragia. A hyperthemia é mais nitida que pelas outras vias, podendo chegar a 42°,5. A dose minima mortal é muito baixa, 5 vezes mais fraca mais ou menos que pela via racheana ou venosa.

54—*Cão macho, 8.900 grs. (Exp. 65)*

Recebe 5 millg. de veneno fresco em 1 c.c. de sôro physiologico, em 1' cae com contracções violentas de todo o corpo; polypnéa violenta.

5'—Paralysia flacida total com abolição geral da sensibilidade e dos reflexos, mesmo os oculares; bradycardia com pausas respiratorias.

8'—Parada definitiva da respiração, uma abundante baba sanguinolenta escapa pelo canto da bocca. bradycardia consideravel com arythmia e extrasystoles.

10'—Morte em uma convulsão.

55—*Cão macho, 6.600 grs. (Exp. 64)*

Recebe 5 millg. de veneno de *Bufo marinus* em 1 c.c. de sôro physiologico.

1'—Respiração offegante e barulhenta, contracções generalizadas.

2'—Abolição de todos os reflexos inclusive os oculares, e da sensibilidade; relaxamento muscular generalizado.

4'—Morte em uma convulsão.

———

Em alguns casos a injecção de doses fracas de veneno muito diluido

em grande volume de vehiculo determina o apparecimento tardio de hypertonia.

56—*Cão macho, 8.100 grs.* (*Exp. 30*)

Recebe 3 millg. de veneno fresco em 2 c.c. de sôro physiologico. Em 2' paralysia total flacida com abolição total dos reflexos; respiração lenta e penosa.

5'—Começo de rigidez das patas anteriores; a respiração muito lenta é bastante barulhenta com extertores e espuma na bocca; anesthesia total.

6'—Rigidez das quatro patas; periodos frequentes de apnéa, variando de 6 a 30".

14'—Mesmo estado geral com rigidez invariavel; phases de apnéa muito longas, bradycardia consideravel; morte em 16'.

Muito mais raramente observam-se phenomenos cerebelares, ás vezes muito accentuados; os animaes rolam sobre o solo, não têm equilibrio para se sustentar e a paralysia sobrevem mais tarde.

57—*Cão macho, 6.100 grs.* (*Exp. 61*)

Recebe 5 millg. de veneno fresco.

1'—Tremores e contracções generalizadas; rola continuamente sobre o solo sem poder parar; grita; procura morder os que lhe cercam.

5'—Contracções menos accentuadas; começo de paresia geral; abolição da sensibilidade e dos reflexos; mydriase.

6'—Paralysia total flacida; respiração lenta, barulhenta com longas pausas; bradycardia; arythmia com extrasystoles, baba sanguinolenta. Morte em 10'.

58—*Cão macho, 5.800 grs.* (*Exp. 62*)

Recebe 1 millg. de veneno; logo em seguida apresenta uma respiração estertorosa; difficuldade em se manter sobre as patas; o animal esfrega sem parar com suas patas a região occipital, sacode a cabeça, recomeça a se coçar. 15' começa a melhorar, permanencia de pé impossivel. Normal em 3 horas.

59—*Cão macho, 600 grs.* (*Exp. 90*)

Recebe 2 millg. de veneno fresco; desde logo, começa a coçar a região occipital; em seguida perde o equilibrio (1') e rola sem parar. Morte em 3'.

VIA SUB-DURAL

E' a mais severa de todas. A dose minima mortal para o coelho é inferior a 0,50 millg. de veneno fresco (igual a 0,15 millg. de veneno secco) a acção local do veneno se manifesta por disturbios do equilibrio e do andar, mais accusados do lado da injecção; os animaes giram sobre si mesmo e ficam hemiplegicos; a paralysia se completa em seguida.

60—*Coelho 1.500 grs. (Exp. 112)*

Recebe 2 gottas de veneno (igual a 1 millg. de veneno fresco ou 0,3 millg. de veneno secco) depois da trepanação do parietal esquerdo ás 11 horas e 13'.

2'—Dyspnéa intensa.

3'—Paresia, sobretudo notavel do lado esquerdo; o animal começa a girar sobre si mesmo acabando por se deitar desse lado.

10'—Hemiplegia esquerda completa; sensibilidade abolida da cauda e das quatro patas; diminuida nas orelhas; hyperesthesia ligeira do nariz; reflexos oculares normaes; tremores violentos e generalizados.

27'—Arythmia completa: extrasystoles numerosas; tachycardia.

34'—Tetraplegia quasi completa, sensibilidades dolorosa e thermica abolidas nas patas e no tronco; diminuidas no nariz; reflexos oculares enfraquecidos.

52'—Violentas convulsões tonicas se repetindo ás 12-35' e ás 13-10'. Morte ás 15 horas.

61—*Coelho, 1.600 grs. (Exp. 113)*

Recebe ás 11 hs. 20', 1 gotta de veneno (igual a 0,5 millg. de veneno fresco ou 0,15 millg. de veneno secco) depois da trepanação do lado direito.

3'—Forte dyspnéa com fraqueza muscular.

4'—Forte salivação.

20'—Tachycardia muito pronunciada, o animal está deitado, o focinho sobre o solo; fortemente excitado, elle se levanta e curvado em arco começa a voltar-se sobre si mesmo do lado direito e acaba por ficar deitado desse lado.

100'—A paresia se accentua á direita.

4 hs. Hemiplegia direita quasi completa, com grande diminuição da sensibilidade, e dos reflexos nas quatro patas e no tronco. Morte durante a noite. Esses symptomas são absolutamente comparaveis aos observados pela applicação de veneno sobre a mucosa ocular e nasal; essa

analogia contribuio para que admittissemos desde logo, a possibilidade de uma propagação do veneno por via nervosa, facto que a experiencia não confirmou.

CONCLUSÕES

Qualquer que seja a via de introducção empregada:—gastrica, venosa, racheana, intracraneana, o veneno de *Bufo marinus* manifesta em todos os casos uma grande affinidade para os centros nervosos; observando-se a principio, uma excitação muito accentuada, seguida de uma depressão e de paralysia. Collocado directamente sobre os centros nervosos, determina desde logo lesões locaes, traduzindo-se por phenomenos variaveis segundo as regiões; depois apparecem os symptomas geraes e habituaes; respiratorios, cardiacos, que nunca deixam de existir.

Por que mechanismo se faz esta ultima acção ?

Parece-nos que elle se produz em seguida á congestão intensa e ás alterações vasculares determinadas pelo veneno, que pode ser assim lançado na circulação geral, e não por uma marcha ascendente do veneno ao longo dos elementos da medulla allongada, por exemplo, facto que não nos foi possivel demonstrar.

TERCEIRA PARTE

ACCUMULAÇÃO DO VENENO

Um dos caracteres do veneno de *Bufo marinus* é a lentidão extrema de sua eliminação e consequente accumulo no organismo.

As injecções repetidas de pequenas doses determinam symptomas, cada vez mais accentuados, porém desapparecendo mais ou menos completamente, até ao momento em que a somma do veneno injectado attinge a dose minima mortal habitual por injecção unica e o animal succumbe. Qualquer que seja a dynaminisação das doses, esse accumulo é sempre produzido nas condições que trabalhamos, isto é, com intervallos variaveis de algumas horas a 3 mezes.

Vejamos por exemplo uma experiencia em cão, *por injecção endovenosa,* já publicada em um outro trabalho: a dose minima mortal de veneno fresco por via venosa, para o cão, é de 10 a 20 millg.; com o veneno secco oscilla entre 1,5 e 3 millg. para injecções massiças. Dois cães *A* e *B* recebem doses repetidas de 0,3 millg. de veneno secco por via venosa; um, morre em 36 dias, depois de haver recebido 5 injecções ou sejam 1,5 millg. de veneno, 4 dias após a ultima dose. O segundo recebeu 1,8 millg. de veneno secco; apresentou depois da ultima injecção uma

paralysia posterior completa que desappareceu lentamente e succumbiu 5 semanas depois com lesões accentuadas do figado, dos rins e da medulla. Eis os protocollos dessas experiencias:

62—*Cão A—Peso inicial 6.000 grs.*

16/11/28—1ª. injecção de 0,3 millg. de veneno secco; nenhum symptoma.

27/11/28—2ª. injecção de 0,3 millg. de veneno secco; nenhum symptoma.

1/12/28—3ª. injecção de 0,3 millg. de veneno secco; tachycardia, tremores generalizados, paresia posterior durante uma hora.

7/12/28—4ª. injecção de 0,3 millg. de veneno secco; mesmos symptomas, um pouco mais accentuados e paralysia.

18/12/28—5ª. injecção de 0,3 millg. de veneno secco; tachycardia muito forte, tremores generalizados, dyspnéa, paralysia posterior, retrocedendo em parte nos dias seguintes. Morte em 22/12/28.

63—*Cão B—Peso inicial 7.500 grs.*

16/11/28—1ª. injecção de 0,3 millg. de veneno secco; nenhum symptoma.

27/11/28—2ª. injecção de 0,3 millg. de veneno secco; nenhum symptoma.

1/12/28—3ª. injecção de 0,3 millg. de veneno secco; nenhum symptoma.

7/12/28—4ª. injecção de 0,3 millg. de veneno secco; tachycardia, ligeira paresia posterior.

18/12/28—5ª. injecção de 0,3 millg. de veneno secco; paresia posterior não retrocedendo completamente; região lombar arqueada, emmagrecimento accentuado.

27/12/28—6ª. injecção de 0,3 millg. de veneno secco; paralysia posterior completa 2 horas após a injecção, diminuindo um pouco nos dias seguintes; paralysia vesical, emmagrecimento progressivo. Morte no dia 2/2/929.

———

Por via lombar (*racheana*) a dose mortal é de 15 a 20 millg. de veneno fresco.

64—Cão C—Peso inicial 7.100 grs.

26/6/28—1ª. injecção de 2,5 millg. de veneno fresco na rache lombar; 2' depois paresia posterior, tachycardia passageira.

28/6/28—2ª. injecção de 2,5 millg. de veneno fresco na rache lombar; mesmos symptomas passageiros.

30/6/28—3ª. injecção de 5 millg. na rache lombar, paralysia com hypertonia do trem posterior; paralytico no dia seguinte. Normal em 3/7/28.

4/7/28—4ª. injecção de 5 millg. na rache lombar, paralysia posterior completa, flacida no trem posterior com hypertonia do trem anterior, no dia seguinte edema da região penial e do penis, paralysia vesical completa, com retenção de urina; paralysia posterior total. Morte 9 dias depois da ultima injecção no dia 15/7/28 com graves lesões organicas assignaladas mais adiante (IV parte).

Total do veneno recebido: 15 millg. em 5 injecções (veneno fresco). Esses phenomenos de accumulo apparecem mesmo usando differentes vias para cada injecção, mostrando que a morte nos casos agudos é devida principalmente aos disturbios cardiacos; nas intoxicações lentas ella é devida ás lesões organicas (figado, baço, rins, medulla, etc.), que fallaremos na ultima parte deste trabalho, occasionando disturbios visceraes graves. Vejamos um desses protocollos:

65—Cão D—peso 8.200 grs.

26/12/27—1ª. injecção de 3 millg. de veneno fresco por via venosa; tachycardia intensa, seguida de fadiga muscular e somnolencia.

27/12/27—2ª. injecção de 3 millg. de veneno fresco abaixo da 12ª. vertebra dorsal; dyspnéa, tachycardia, ao fim de 5' paralysia posterior flacida total, rigidez anterior, anesthesia posterior, completamente restabelecido em 24 horas.

29/12/27—3ª. injecção de 3 millg. de veneno fresco na rache lombar; 5' depois paralysia posterior flacida, rigidez anterior, curtos periodos de fibrillação ventricular, arythmia total.

6/ 1/28—Completamente restabelecido recebe a 4ª. injecção de 3 millg. de veneno fresco, abaixo da 5ª. cervical. Ao fim de 8', anesthesia e paralysia flacida total de todo o corpo até ao nivel dos membros anteriores que apresentam-se tetanizados bem como o pescoço; paralysia laryngéa; tachycardia grande; restabelecido sómente ao fim de 4 dias.

11/ 1/28—5ª. injecção de 3 millg. de veneno fresco abaixo da 12ª.

dorsal; paralysia posterior completa aos 15', retrocedendo lentamente, notando-se porém uma retenção de urina completa durante 36 horas.

19/ 1/28—Incoordenação dos movimentos das patas, sobretudo na parte posterior que é bem accusada; relaxamento dos esphincteres; incontinencia de urina e de fezes. Nessa situação, recebe ainda a 6ª. injecção de 3 millg. de veneno fresco na rache lombar; em 20', anesthesia posterior total, sómente apparecendo a paralysia em 25'; torpor profundo; abolição da sensibilidade em todo o corpo. 3 horas depois ensaia levantar-se sobre as patas anteriores; a sensibilidade reapparece no focinho. Mesmo estado no dia seguinte. Morte durante a noite de 21 para 22/1/28.

Dose total de veneno fresco recebida entre 26/12/27 e 19/1/28: *18 millg. divididos em 6 injecções de 3 millg.*

E' preciso accentuar nesta observação o apparecimento cada vez mais tardio da paralysia depois de cada nova injecção; esse retardamento é devido a uma grande reacção inflammatoria da meninge, retardando a fixação local do veneno sobre os elementos nervosos, facilitando porém ao contrario, sua penetração no organismo como bem se pode apreciar pelo apparecimento sempre mais rapido e mais intenso dos phenomenos geraes e principalmente respiratorios e cardiacos. Esse retardamento dos phenomenos paralyticos é ainda mais nitido na observação seguinte onde foram empregadas doses um pouco mais fortes de veneno, injectadas sempre no mesmo ponto.

66—*Cão E 10.000 grs.*

9/4/28—1ª. injecção de 5 millg. de veneno fresco na rache lombar.

2'—Dôr local e excitação violenta.

2'-30"—Paralysia posterior flacida.

4'—Rigidez anterior, tachycardia com extrasystoles. Procura se levantar 30' depois da injecção.

17/4/28—Estando completamente restabelecido recebeu a 2ª. injecção de 5 millg. na rache lombar.

2'—Tachycardia intensa com extrasystoles.

5'—Paresia posterior, excitação violenta.

17'—Paralysia posterior completa. Procura se levantar 2 hs-30' depois da injecção.

20/4/28—Completamente restabelecido, recebe a 3ª. injecção de 5 millg. ainda na rache lombar.

2'—depois da injecção, arythmia total.

10'—Inquietude, dôres, gritos.

43'—Paralysia posterior completa. Procura se levantar 3 horas depois da injecção; apresenta no entanto, uma ligeira paresia posterior nos dias seguintes.

8/5/28—Recebe a 4ª. injecção de 5 millg. na rache lombar.

2'—Depois, arythmia total.

10'—Grande agitação.

100'—Paralysia posterior completa, com rigidez da parte anterior e abolição geral da sensibilidade. Morte ao fim de 6 hs. *Dose total de veneno injectada: 20 millg. em 4 injecções no intervallo de 30 dias.* Na autopsia, encontramos as meninges espessadas, congestas, hemorrhagicas em alguns pontos e fortemente adherentes á medulla, sendo impossivel separal-as sem as dilacerar.

CONCLUSÕES

Qualquer que seja a via empregada, em nossas condições experimentaes (variando de 2 dias a 3 mezes) o veneno de *Bufo marinus* injectado em dóses infra-mortaes, accumula-se no organismo, produzindo depois de cada nova injecção: symptomas mais accentuados e mais demorados, retrocedendo completamente depois das primeiras doses; deixando disturbios mais ou menos graves quando se approxima da dose mortal. A morte sobrevem quando o total das injecções corresponde mais ou menos á dose minima mortal de uma só injecção para a especie do animal e a via empregada.

QUARTA PARTE

ANATOMIA PATHOLOGICA

As lesões encontradas na autopsia das intoxicações pelo veneno de sapo, são, ora, de origem puramente mechanica, como nas intoxicações massiças onde a morte sobrevem em alguns minutos, ora, lesões inflammatorias ou de degenerescencia nas intoxicações lentas.

INTOXICAÇÕES AGUDAS

A injecção endo-venosa de doses massiças de veneno determina uma congestão generalizada de todos os orgãos, com numerosas hemorrhagias intersticiaes em virtude das violentas contracções de toda a musculatura lisa e estriada; o coração é o orgão mais attingido; nos casos de morte muito rapida, 1' a 3' no cão, o coração pára em systole ventricular, é diminuido de volume e duro; pequeno coagulo cruorico nas auriculas e muitas vezes nos ventriculos. Quando a morte sobrevem um pouco mais

lentamente, de 6 a 30', o coração apresenta-se com dilatação moderada, augmentado de volume, todas as cavidades cheias de coagulos cruoricos, sua consistencia é augmentada. Em um e outro caso, existem numerosas hemorrhagias sub-endotheliaes e mesmo na espessura das paredes. Localisam-se essas hemorrhagias sobretudo no coração direito e na visinhança do infundibulum da pulmonar nas intoxicações muito rapidas, podendo em outros casos, ser extremamente abundante em todos os pontos: auriculas, ventriculos, valvulas, pilares. Essa infiltração toma toda a espessura da parede. Em certos casos, hydropericardite mais ou menos accusada. Os pulmões fortemente congestos podem apresentar egualmente fócos hemorrhagicos mais ou menos numerosos; ha geralmente um pequeno derrame pleural nos casos de morte lenta; os bronchios e a trachéa podem ser invadidos de secreções espumosas e estriadas de sangue como se observa no edema pulmonar; todas as visceras abdominaes são egualmente congestas; observa-se muitas vezes pequenas hemorrhagias intestinaes e estomacaes; o figado e baço podem apresentar um pontilhado hemorrhagico; existe frequentemente um pequeno derrame peritoneal; as meninges fortemente congestas, algumas vezes com pontos hemorrhagicos.

A injecção sub-cutanea ou *intra-muscular* provoca sobretudo uma necrose humida e extremamente fétida.

A injecção racheana, quando a morte é rapida determina além de lesões organicas congestivas e hemorrhagicas mais ou menos accentuadas comparaveis áquellas observadas por via venosa, uma forte reacção meningéa local. As meninges apresentam-se inflammadas, espessas, com pontos hemorrhagicos, sendo que apresenta-se normal um pouco acima do ponto da injecção.

A injecção no 4º ventriculo é seguida de lesões cardiacas hemorrhagicas extremamente pronunciadas; hydropericardite, inconstante pelas outras vias, e que, nesta é regra commum. Lesões constantes de edema agudo hemorrhagico dos pulmões; ás vezes um lobo inteiro fica infiltrado de sangue.

INTOXICAÇÕES LENTAS

Nas intoxicações lentas encontra-se em gráos mais ou menos accusados as lesões precedentes, ás quaes vem se ajuntar lesões de degenerescencia. Nosso collega Dr. Dorival Camargo Penteado, a quem mais uma vez aqui agradecemos, teve a gentileza de se encarregar das pesquizas histologicas.

Por via venosa, em seguida a injecções repetidas de doses fracas não se observa macroscopicamente nenhuma lesão particular; em certos casos sómente, o figado apresenta uma coloração acastanhada particular, tanto no cão como na rã. Histologicamente, o figado se apresenta congesto, com lesões de esclerose peri-vascular, e as cellulas de Kupfer cheias de uma pigmentação côr de ferrugem; esse pigmento se encontra egualmente no baço, em parte phagocitado pelos macrophagos. Congestões renaes e peri-esplenites. As lesões medullares localisam-se sobretudo na substancia cinzenta. Vejamos uma autopsia illustrando esses resultados:

67—Cão F—Peso 5.200 grs.

12/4/28—Recebe a 1ª. injecção de 6 millg. de veneno fresco por via venosa: tachycardia, arythmia, e dyspnéa immediatas restabelecendo-se ao fim de 1 hora.

17/4/28—2ª. injecção de 6 millg. de veneno fresco pela mesma via; mesmos symptomas restabelecendo-se ao fim de 1 hora.

24/4/28—3ª. injecção de 6 millg. de veneno fresco pela mesma via: morte em 3'.

AUTOPSIA

Macroscopicamente: Todos os orgãos apresentavam-se normaes.
Laudo do exame histo-pathologico:

Medulla (*Gravura nº 1*)—*Substancia branca,* apresentando-se mais ou menos normal, com ligeira alteração dos tubos que em alguns pontos são dilatados e o cylindro-eixo entortilhado. *Substancia cinzenta*:—As cellulas nervosas bastante alteradas em seu protoplasma, nucleo e corpos de Nissl. *Ependyma*:—Muito dilatado com escamação epithelial.

Figado (*Gravura nº 2*)—Congestionado com alterações nas traves, cujas cellulas se acham comprimidas e em começo de vacuolisação. *Espaço-porta,* em começo de esclerose e vasos com as paredes alteradas. As cellulas de Kupfer apresentam-se cheias de um pigmento côr de ferrugem parecendo derivado do sangue.

Rim:—Congestionado e com alguns fócos hemorrhagicos. Glomérulos muito dilatados enchendo toda a cavidade. Na camada medullar os tubos apresentam o epithelio descamado.

Baço (*Gravura nº 3*)—Apresenta as lesões de periesplenite com os corpusculos de Malpighi alterados e grande quantidade de macrophagos, phagocitando um pigmento amarello côr de ferrugem, parecendo detrictos de sangue.

Via racheana:—a injecção racheana determina paralysias mais ou menos prolongada; em certos casos a paralysia vesical completa durante 2 a 3 dias podendo ir até a necrose, e consequente perfuração da bexiga; a vaso dilatação seguindo o primeiro periodo de contracções generalizadas, é intensa em todo o territorio paralytico. Afóra esses factos, as lesões histologicas consecutivas á injecção racheana de veneno são comparaveis áquellas observadas pela via venosa, variando sómente de intensidade conforme a duração da intoxicação. Sómente as meninges e a medulla apresentam lesões bastantes mais accentuadas devido a acção directa do veneno; no ponto da inoculação, existe uma reacção inflammatoria enorme das meninges, degenerescencia completa dos elementos nervosos e esclerose vascular. Essas lesões attingem a uma altura variavel acima do ponto da inoculação. Os outros orgãos, figado, rim, baço e pulmões, apresentam lesões analogas ás já descriptas na via venosa. As duas autopsias seguintes são sufficientes para documentar esses factos:

68—Cão G—Peso 8.000 grs.

24/12/27—Recebe 5 millg. de veneno fresco na rache lombar: paralysia completa em 10'; restabelecido no dia seguinte.

26/12/27—Recebe 5 millg. de veneno fresco na rache lombar: paralysia posterior completa em 12'. Morte em 24 horas.

AUTOPSIA

Macroscopicamente: Todos os orgãos normaes, excepto a medulla lombar que se achava congestionada com as meningeas espessadas e egualmente congestas.

Laudo do exame histo-pathologico:

a) Medulla:—*Ponto distante da inoculação* (*Gravuras nºs. 4 e 5*)—*Meningea* muito espessada apresentando em alguns pontos invasão leucocytaria, indice de inflammação aguda com vasos de paredes espessadas. *Neuroglia* e *tubos nervosos* normaes. *Substancia cinzenta* com algumas cellulas nervosas, apresentando ligeira alteração nos corpos de Nissl e nucleo, tomando com mais homogeinidade o corante, indicando um começo de picknose.

b) Medulla:—*Ponto de inoculação* (*Gravura nº. 6*)—*Tecido cellulo adiposo peri-meningeo* apresentando intensa inflammação, com grande numero de leucocytos (lymphocytos e plasmatzellen) e as meningeas fortemente inflammadas. *No tecido nervoso* propriamente, degeneração profunda dos cordões e tubos de myelina fragmentados, turgidos e

muito dilatados. *Ganglio racheano*:—O ganglio racheano apresenta o parenchyma alterado por um tecido néo-formado e as cellulas egualmente alteradas e comprimidas por esse tecido.

Figado (*Gravuras nºs. 7 e 8*)—Congestão produzindo a dissociação das traves, cujas cellulas em certos pontos apresentam-se alteradas e com pequenos vacuolos. *A veia central* congestionada, apresentando em alguns pontos grande invasão leucocytaria. *Espaço-porta*:—Vasos muito dilatados, comprimindo os canaliculos biliares e grande *pigmentação côr de tijolo.*

Baço (*Gravuras nºs. 9 e 10*):—Capsula muito espessada enviando traves tambem espessadas para o interior, vasos bem esclerosados e os folliculos bem conservados. Grande numero de cellulas macrophagas com pigmento sanguineo.

69—*Cão E—10 kilos* (*veja exp.*: *detalhada nº 66—IIIª. parte*)

Resumo:—Recebeu de 9/4/28 a 8/5/28, 4 injecções de veneno fresco na rache lombar, de 5 millg. cada uma. Morte 6 horas depois a ultima injecção.

AUTOPSIA

Macroscopicamente:—Meningeas espessadas e congestas, hemorrhagicas até ao nivel das ultimas cervicaes, adherentes á medulla de tal fórma que era impossivel separal-as; medulla lombar edemaciada. Coração com numerosos fócos hemorrhagicos principalmente no ventriculo direito. Pulmões com grandes fócos congestivos e hemorrhagicos. Figado apresentando uma côr acastanhada; os outros orgãos normaes.

Laudo do exame histo-pathologico:—

a) Medulla:—*Ponto distante da inoculação* (*Gravuras nºs. 11 e 12*):—*Meningeas*: *Dura-mater* ligeiramente espessada com pequeno numero de leucocytos (inflammação). *Pia-mater* apresentando os vasos congestionados e affluxo leucocytario abundante.

Neuroglias, nas adjacencias da pia-mater apresenta os tubos nervosos degenerados; as cellulas nervosas dos cornos anteriores e posteriores completamente degeneradas; invasão de lymphocytos principalmente em redor dos vasos. Ependyma, conservando o endothelio normal.

b) Medulla:—*Ponto proximo da inoculação* (*Gravuras nºs. 13, 14, 15 e 16*):—*Tecido cellulo adiposo* envolvendo as meningeas com forte reacção inflammatoria aguda. *Dura-mater* muito espessada (esclerose) e com alguns leucocytos polymorpho-nucleares.

Porção branca:—vasos congestionados e cercados de grande numero de cellulas (lymphocytos e leucocytos polymorphos). *Cellulas nervosas*:—retrahidas e em completa degeneração (nucleos retrahidos e com desapparecimento do nucleolo). *Tubos nervosos*, muito alterados, com modificações profundas do cylindro-eixo, apresentando mesmo em alguns pontos, completa fusão desse cylindro. *As fibras dos cordões anteriores e posteriores* degeneradas e fraccionadas. No *ependyma*, o endothelio hyperplasiado e vasos congestionados cercados de cellulas lymphocytarias e leucocytarias polymorpho-nucleares.

Rim (*Gravura nº. 17*):—Congestão generalizada e alguns pontos hemorrhagicos. Pequena descamação epithelial nos tubos contornados. Na região medullar os tubos rectos e alças de Henle dilatadas, com as cellulas granulosas e os nucleos em picknose. Congestão e hemorrhagia renal com um começo de nephrite epithelial.

Pulmão (*Gravura nº 18*):—Hemorrhagia intensa e vasos congestionados: os alveolos dilatados e em alguns pontos rompidos communicando-se uns com os outros (emphysema). Bronchios dilatados, cercados de massas de cellulas embryonarias, leucocytos polymorphos, lymphocytos e com o epithelio descamado e hyperplasiado. Emphysema, hemorrhagia pulmonar e bronchite aguda.

Nota:—No pulmão encontram-se *embryões de filaria*.

PESQUIZA DO VENENO NO ORGANISMO

A pesquiza do veneno de *Bufo marinus* no organismo dos animaes intoxicados é difficil, salvo nos casos de intoxicações massiças por via gastrica, onde grandes quantidades de veneno, liquido ou pastoso se encontram no estomago e podem ser caracterizadas, seja *in vitro*, seja *in vivo*. A maioria das reacções chimicas do veneno de *Bufo marinus* se compara com as de numerosos lipoides, principalmente a cholesterina, o que tira todo o valor pratico dessas pesquizas. Ensaiamos diversos processos para encontrar o veneno no organismo. A principio procuramos injectar o veneno juntamente com uma solução de Trypanblau. Os exames macroscopico e histologico dos animaes não nos deram nenhum resultado. Sómente por injecção racheana de veneno de mistura com o corante, as meningeas e a medulla apresentavam-se completamente descoradas, na visinhança do ponto da injecção, emquanto que acima e abaixo ficavam bem coradas. Procuramos por em evidencia o veneno, injectando em animaes novos ou já preparados por dóses fracas anteriores de veneno, macerados e extractos de orgãos de animaes que succumbiram depois da injecção de doses massiças ou fraccionadas de veneno.

Utilizamos para esse fim, macerados em agua physiologica ou extractos alcoolicos (o veneno é soluvel na agua e no alcool) ou ainda macerados de orgãos submettidos á digestão em acido chloridrico diluido (1 %) afim de destruir a parte albuminoide. Essas pesquizas não deram nenhum resultado com pequenas quantidades de orgão, emquanto que quantidades maiores de orgãos normaes submettidas á digestão chlorhydica e depois de neutralizadas pela solução de soda, são toxicas, independente da existencia do veneno de sapo, impedindo assim de tirar qualquer conclusão.

Lembramos que o sôro dos animaes submettidos a uma intoxicação lenta pelo veneno de sapo é dotado de um poder fixador elevado em relação ao veneno fresco de *Bufo marinus*.

CONSIDERATIONS FINALES

I

Quelque soit la voie d'introduction (hypodermique, veineuse, artérielle, rachidienne, venin déposé sur les muqueuses, ou sur la peau nue des batraciens, ou dans l'eau des poissons) le venin de *Bufo marinus* détermine chez toutes les espèces animales des symptomes généraux identiques: phase initiale d'excitation plus ou moins longue, accompagnée d'accélération considérable de la respiration et du rythme cardiaque, de vomissements, d'hypersécretion lacrymale, salivaire, etc., puis de convulsions toniques avec spasmes de toute la musculature lisse, d'hypertonie musculaire et enfin d'un état de tétanisme généralisé. Cette première période est suivie d'une phase de dépression et de paralysie flasque, à début postérieur, se complétant rapidement; les mouvements respiratoires s'espacent et disparaissent avant l'arrêt définitif du coeur; la tachycardie initiale simple, fait place à une arythmie totale avec souvent dissociation auriculo-ventriculaire complète, puis le ventricule entre en fibrillation.

II

En plus de ces symptômes communs, on observe des symptômes particuliers avec les différentes voies d'introduction employées. L'injection veineuse, artérielle ou intra-cardiaque, peut amener la mort en quelques instants au milieu de violentes convulsions toniques, en tétanisant le muscle cardiaque.

De vastes oedèmes hémorrhagiques locaux, suivis de gangrène fétide, s'observant même avec des venins stérélisés à l'autoclave (30 mi-

nutes à 120°), caractérisent les injections hypodermiques ou intramusculaires.

L'action du venin déposé sur les muqueuses occulaires, nasale ou buccale, occasione une forte ischémie locale acompagnée d'anesthésie, et suivie d'une période congestive plus ou moins douloureuse suivant la muqueuse, avec hypersécrétion abondante; on peut même observer une panophtalmie avec perforation de la cornée chez le lapin. En même temps apparaissent les symptômes généraux habituels et la mort peut être très rapide (40 minutes pour le lapin par voie occulaire; 3 minutes chez le lézard par voie buccale).

L'injection rachidienne, quelque soit la hauteur, agit d'abord sur les éléments nerveux au point de l'injection, déterminant après une très courte période d'excitation, une paralysie flasque avec anesthésie et abolition totale des réflexes dans toute la partie du corps située au dessous du point de l'injection; la partie du corps située au dessus de ce point ne présente au contraire que des phénomènes d'excitation persistants avec grande rigidité musculaire et opisthotonus. Plus tard, apparaissent les troubles généraux habituels, respiratoires, cardiaques, sécrétoires; la mort survient rapidement; avec des doses infra-mortelles, les phénomènes paralytiques persistent quelques jours puis disparaissent.

L'injection dans le 4ème. ventricule est suivie de paralysie flasque rapide de tout le corps avec abolition générale de la sensibilité et des réflexes; l'hyperthermie est toujours accusée, et les troubles cardiaques et surtout respiratoires plus marqués que dans les autres voies.

III

Presque toutes les espéces animales sont très sensibles à ce venin, soit par voie parentérale, soit à travers les muqueuses principalement la muqueuse digestive: mammifères (chien, chat, lapin, cobaie, cheval), oiseaux (pigeon), poissons, la plupart des serpents, lézards, batraciens (crapauds, entre autres le propre *Bufo marinus*; grenouilles et rainettes de diverses espèces), crustacés et insectes (odonates).

IV

Quelque soit la voie employée, le venin de *Bufo marinus* administré à doses infra-mortelles, s'accumule dans l'organisme, produisant dans nos conditions expérimentales (variant de 2 jours a 3 mois) des symptômes toujours plus accentues après chaque nouvelle injection; ces symptômes disparaissent complètement après les premières doses, mais laissent

à leur suite des troubles plus ou moins graves quand on s'approche de la dose mortelle. La morte survient quand le total des injections correspond à peu près à la dose qui serait mortelle d'emblée, en une seule injection dans les mêmes conditions expérimentales.

V

Les lésions trouvées à l'autopsie dans les cas de mort rapide sont d'origine purement mécanique: hémorragies sous endothéliales et nombreux infarctus cardiaques, hémorragies discrètes dans divers organes; oedème pulmonaire aigü après les injections dans la 4ème ventricule.

Dans les intoxications lentes, on observe constament des lésions inflammatoires périvasculaires surtout nombreuses dans le foie, la rate, les reins, la moelle; les cellules hépatiques et spléniques sont remplies d'un pigment couleur de feuille morte existant chez le chien comme chez la grenouille; les cellules nerveuses de la moelle sont profondément altérées aussi bien que les tubes nerveux.

L'injection rachidienne détermine en outre une très forte réaction inflammatoire au point de l'injection.

Travail de l'Institut Bios, Niteroi—Brésil

REFERENCIAS

1—ABEL et MACHT:—2 crystalline pharmacological agents from the *Bufo-agua. Jour. of pharm. and exp. Ther.* III-1912.

2—CLAUDE BERNARD:—*Leçons sur les substances toxiques et médicamenteuses.* Paris 1857 — *Leçons de pathologie expérimentale.* Paris 1857.

3—FAUST (Edwin S.):—Ueber Bufonin und Bufotalin, die wirksamen Bestandtheile des Kroetenhautdrüsensecretes. *Archiv. f. exp. Path. und Pharm. Bd. 47-1912.*—Die tierischen Gifte in *Heffter—Hand. d. exp. Pharmakologie. Bd. II.*

4—GESSNER (Otto):—Ueber die Wirkung des Kroetengiftes.....*Archiv. f. exp. Path. u. Pharm.*—1926-118—Ueber amphibiengifte. *Sitzungsberichte d. Gesel. z. Beforderung d. Gesam. Naturwiessench. z. Marburg 1926—61.*

5—JAYME PEREIRA:—Sobre a acção physiologica do veneno de sapo—*Jornal dos Clinicos*. Rio de Janeiro—1926.—*Idem*, veneno de sapo e secreção urinaria. *Memorias do Inst. de Butantan*—III, 1926.—*Idem* veneno de sapo e musculo liso. *Ibidem*—III, 1926.

6—KANSHO RYO:—Beiträge zus Pharmakologie des Kroetengiftes. res. in *Ber. ueb. d. ges. physiol. u. exp. Pharmakologie*. Bd. 43—1928.

7—KOTAKE (Munio):—Ueber das Kroetengift. I Mitt. Die Zusammensetzung des chinesichen Arzneimittels «Senso». *Liebigs Ann. 465—1928* — *Id.* II Mitt. Die Giftigen Bestandtheilen des Sekretes des Japanischen Kroetes (B. Japanicus) *Ibid.* 465—1928.

8—LACERDA (J. Baptista):—Algumas experiencias com o veneno de Bufo-ictericus. *Archivo do Museo Nacional*—III—Rio de Janeiro 1878.

9—NOVARO:—Action toxique du venin de crapaud pour l'homme et les animaux. *C. R. Soc. de Biol. 2ème. sem. 1922* — Action pharmacodynamique du venin de crapaud. *Ibidem* — LXXXVIII, *1923*.

10—PHISALIX et BERTRAND:—Sur le venin des batraciens. *C. R. Ac. des Sc.* Paris, XCVIII, 1884.—Sur les principes actifs du venin de crapaud commun. *Ibidem* CXXXV. 1902. — Recherches sur la toxicité du sang du crapaud commun—*Archives de Physiologie normale* et pathologique. 5ème série. V. 1893.

11—PISO et MARCGRAVIUS:—Historia naturalis Brasiliae. 1648.

12—PUGLIESE:—Sull'azione methemoglobinogena del veleno di rospo. *Arch. d. Farmac. e Terapeut.* II. 1894 — *Arch. Ital. d. Biologia* XXII—1895.

13—VELLARD (J):—Propriétés des sécrétions cutanées de quelques rainettes des environs de Rio de Janeiro—*C. R. Acd. des Sciences—Paris*—188, 1929—Sobre as propriedades das secreções cutaneas de algumas Hylidae dos arredores do Rio de Janeiro.—*Boll. do Inst. Vital Brasil*—8, 1929.

14—VELLARD (J) et ASSIS (A):—Estudos immunologicos sobre os venenos dos batrachios — *Boll. do Inst. Vital Brasil*—7, 1929 — Immmunologische Untersunchungen ueber das Gift brasilianicher anurenarten — *Zeitchr. f. Immunitforch*—Bd. 63, 1929.

15—VELLARD (J) et MIGUELOTE VIANNA (M):—Pesquizas experimentaes sobre o veneno de *Bufo marinus* do Brasil. *Comm. Congr. Sul-Americano de Biologia-Montevidéo*—1930.

16—VITAL BRASIL et VELLARD (J):—Contribuição ao estudo do veneno dos batrachios — *Memorias do Instituto Butantan*—III, 1926.

17—VULPIAN:—Sur le venin du crapaud commum—*C. R. Soc.* de *Biologie*. VI—1854 — Absorption du curare et du venin de crapaud commun—*Ibidem* 1855 et *Gazette médicale de Paris*—1855 — E'tude physiologique du crapaud, du triton et de la salamandre terrestre. *C. R. Soc. de Biol. 2ème. serie*. III, 1856 — Note relative à l'action du venin des Batraciens sur les animaux qui le produisent—*Ibidem*. XVI, 1865.

18—WIELAND (Hermann):—Ueber die Bedeutung des Calciums fuer die geringe Empfindlichkeit der Kroeten gegen Herzgifte—*Bioch. Zeitschr.* CXXVII, 1921.

EXPLICAÇÃO DAS ESTAMPAS I—XII

ESTAMPA I

Fig. 1.—Medulla: Cão F — Exp. 67.
Fig. 2.—Figado: Cão F — Exp. 67.

ESTAMPA II

Fig. 3.—Baço: Cão F — Exp. 67.
Fig. 4.—Medulla: (Ponto distante da inoculação), Cão G — Exp. 68

ESTAMPA III

Fig. 5.—Medulla: (Ponto distante da inoculação), Cão G — Exp. 68.
Fig. 6.—Medulla: (Ponto da inoculação), Cão G — Exp. 68.

ESTAMPA IV

Fig. 7.—Figado: Cão G — Exp. 68.
Fig 8.—Figado: Cão G — Exp. 68.

ESTAMPA V

Fig. 9.—Baço: Cão G — Exp. 68.
Fig. 10.—Baço: Cão G — Exp. 68.

ESTAMPA VI

Fig. 11.—Medulla: (Ponto distante da inoculação), Cão E — Exp. 69.
Fig. 12.—Medulla: (Ponto distante da inoculação), Cão E — Exp. 69.

ESTAMPA VII

Fig. 13.—Medulla: (Ponto proximo da inoculação), Cão E — Exp. 69.
Fig. 14.—Medulla: (Ponto proximo da inoculação), Cão E — Exp. 69.

ESTAMPA VIII

Fig. 15.—Medulla: (Ponto proximo da inoculação), Cão E — Exp. 69.
Fig. 16.—Medulla: (Ponto proximo da inoculação), Cão E — Exp. 69.

ESTAMPA IX

Fig. 17.—Rim: Cão E — Exp. 69.
Fig. 18.—Pulmão: Cão E — Exp. 69.

ESTAMPA X

Fig. 19.—Cão inoculado por via racheana entre a 5ª. e 6ª. vertebras dorsaes: Notamos já um começo de paresia do trem posterior com rigidez do pescoço e do trem anterior (Phase inicial dos symptomas).
Fig. 20.—Mesmo cão da figura 19, porém em uma phase mais adiantada: Notamos já paralysia de todo o trem posterior com rigidez accentuada da parte anterior.
Fig. 21.—Cão inoculado por via racheana ao nivel da 4ª. e 5ª. cervical: Desde inicio os symptomas são mais nitidos, podendo-se destacar que a paralysia é mais alta, impedindo que o animal se mantenha de pé por si mesmo.
Fig. 22.—Cão inoculado na rache lombar: Phase inicial do relaxamento posterior, podendo porém o animal ainda se manter um pouco sobre as patas posteriores.

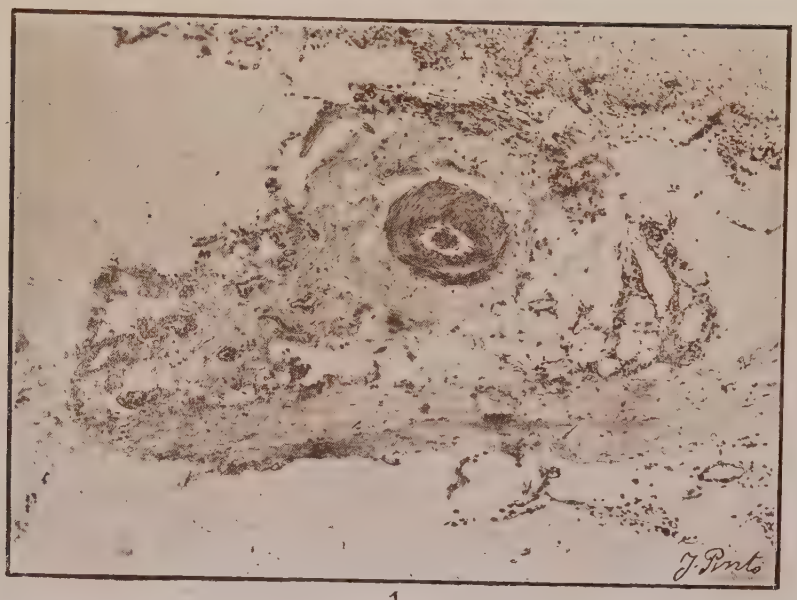
ESTAMPA XI

Fig. 23.—Cão inoculado na rache lombar: Percebe-se muito bem o relaxamento de toda a parte do corpo em contraste com a parte anterior que se encontra tetanizada (Phase mais adeantada).
Fig. 24.—Cão inoculado no ventriculo cerebral: Notamos um relaxamento geral de todo o corpo sem a tetania anterior.
Fig. 25.—Cães inoculados: *nº. 1* por via ventricular cerebral; *nº. 2*, attitude por inoculação racheana entre a 5ª. e a 6ª. dorsaes (inicio dos symptomas); *nº. 3*, inoculação por via racheana em baixo da 3ª. vertebra lombar.

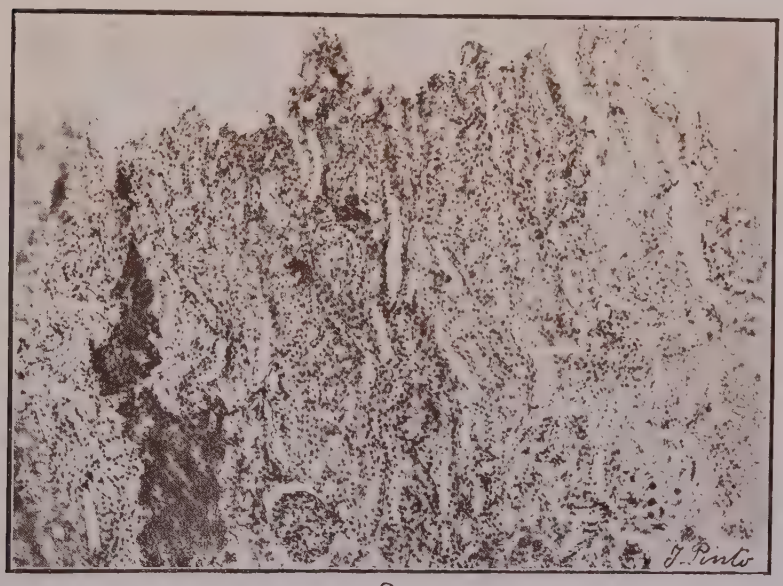
ESTAMPA XII

Fig. 26.—Cão injectado com uma dose infra-mortal na rache lombar: A rigidez anterior começa a desapparecer, emquanto que a paralysia posterior ainda permanece durante alguns dias. Esta attitude observa-se nos animaes que recebem doses infra-mortaes e quando começam a regredir os symptomas.

Fig. 27.—Lagartixa que recebeu por via oral veneno fresco ligeiramente diluido: Phase typica de tetania generalizada, momentos antes da morte.



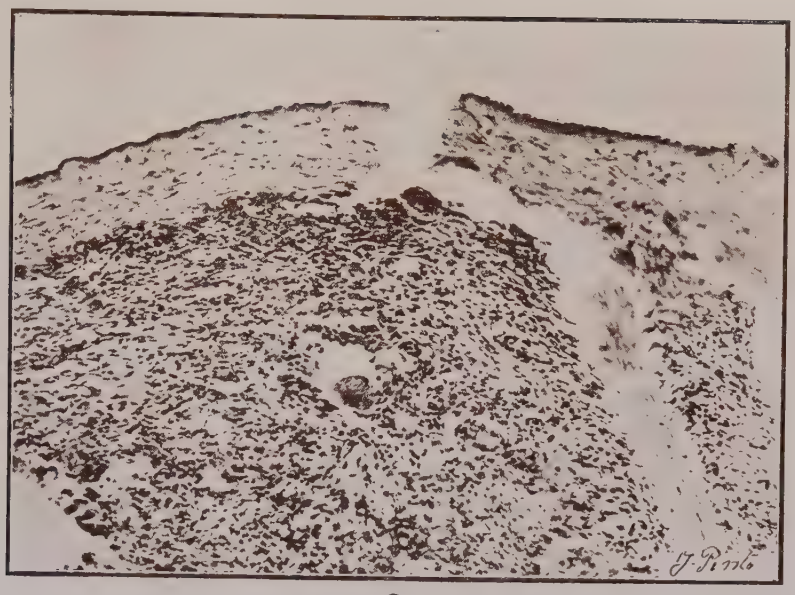
1



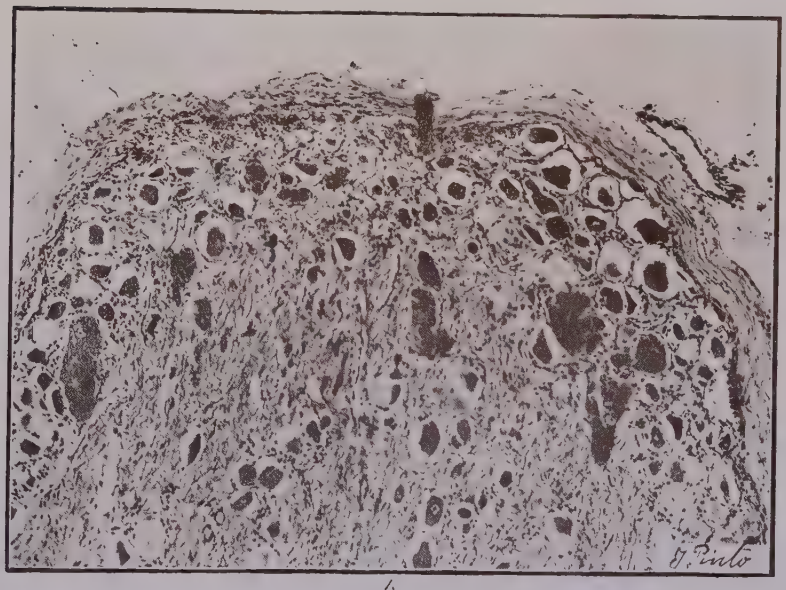
2

Photo J. Pinto.

Drs. J. Vellard e M. Vianna : Pesquizas experimentaes sobre o veneno do sapo commum do Brasil (*Bufo marinus* L.).



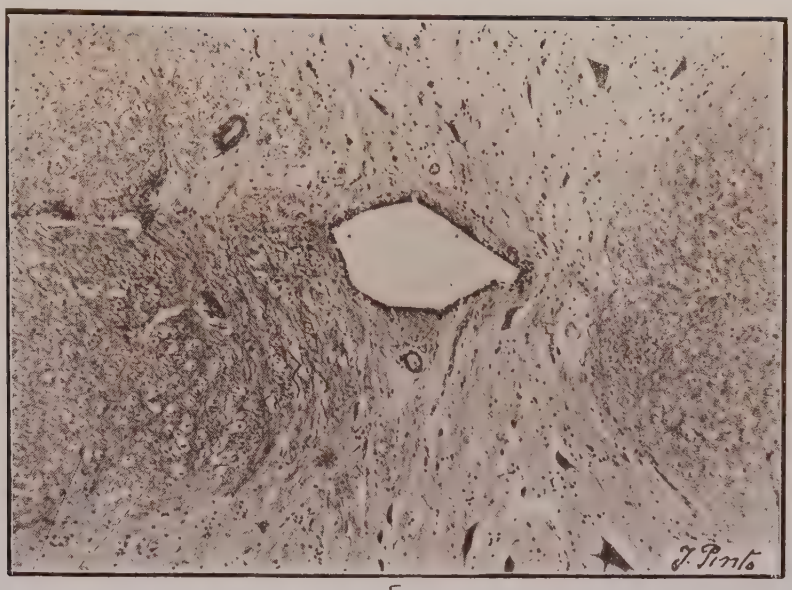
3



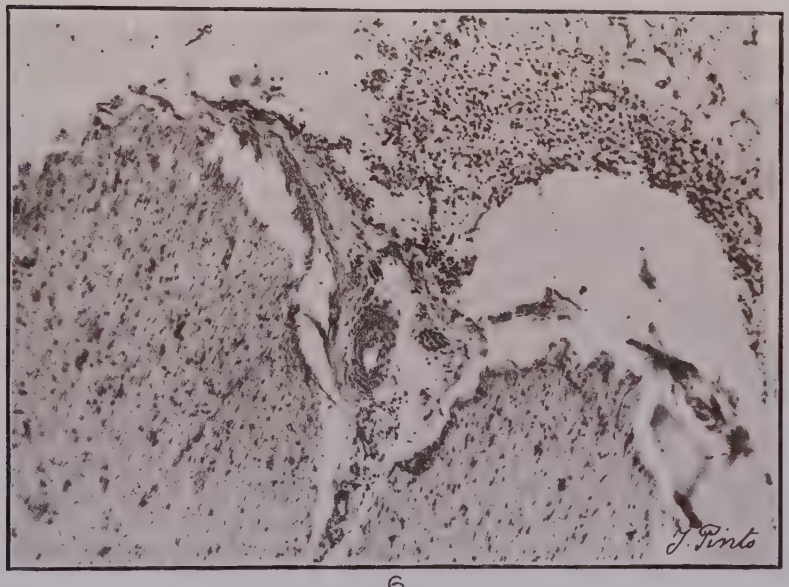
4

Photo J. Pinto.

Drs. J. Vellard e M. Vianna : Pesquizas experimentaes sobre o veneno do sapo commum do Brasil (*Bufo marinus* L.).



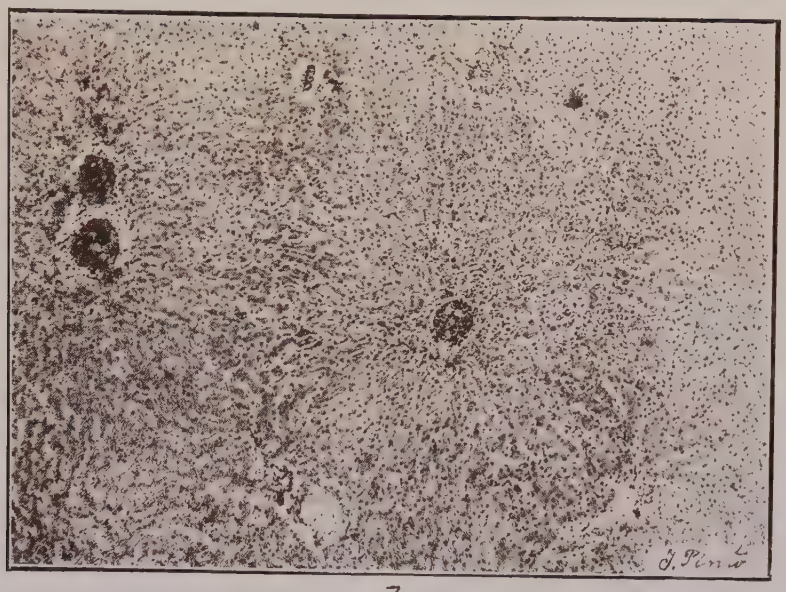
5



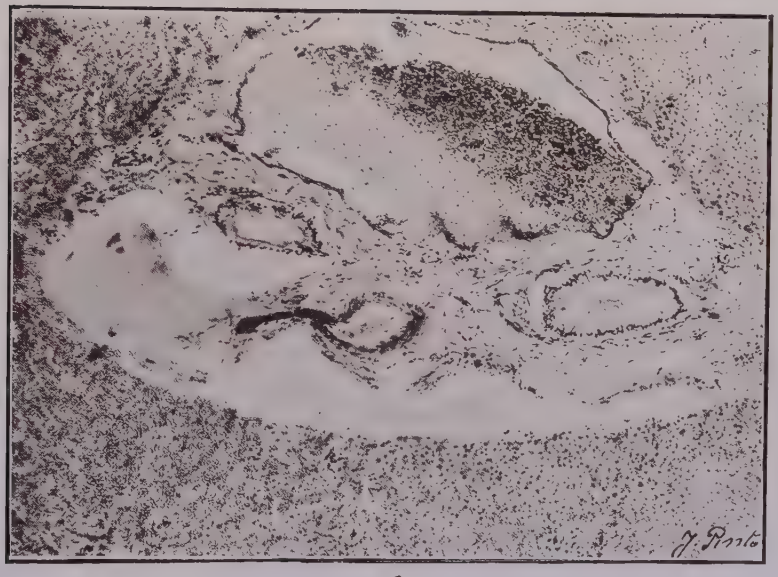
6

Photo J. Pinto.

Drs. J. Vellard e M. Vianna : Pesquizas experimentaes sobre o veneno do sapo commum do Brasil *(Bufo marinus* L.).



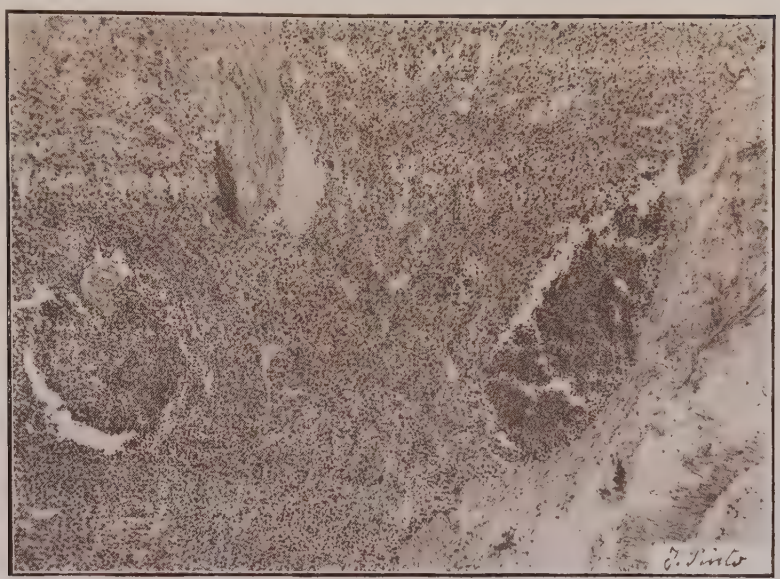
7



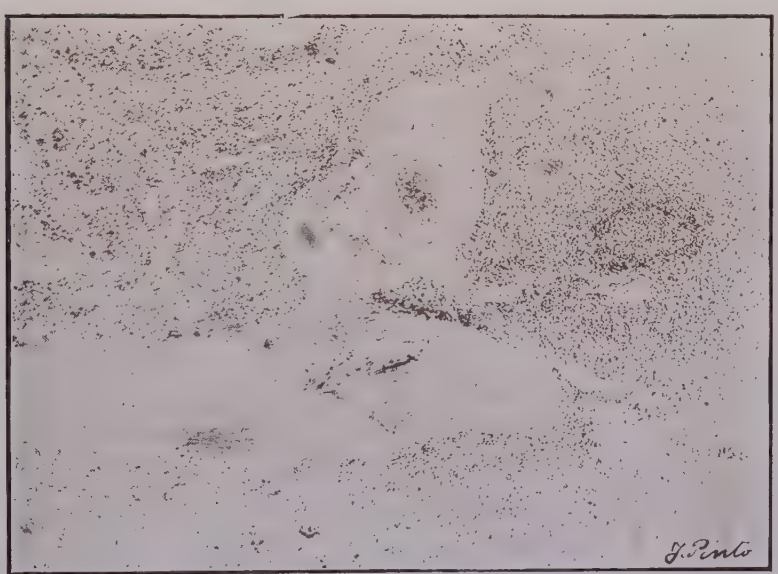
8

Photo J. Pinto.

Drs. J. Vellard e M. Vianna : Pesquizas experimentaes sobre o veneno do sapo commum do Brasil *(Bufo marinus* L.).



9



10

Photo J. Pinto.

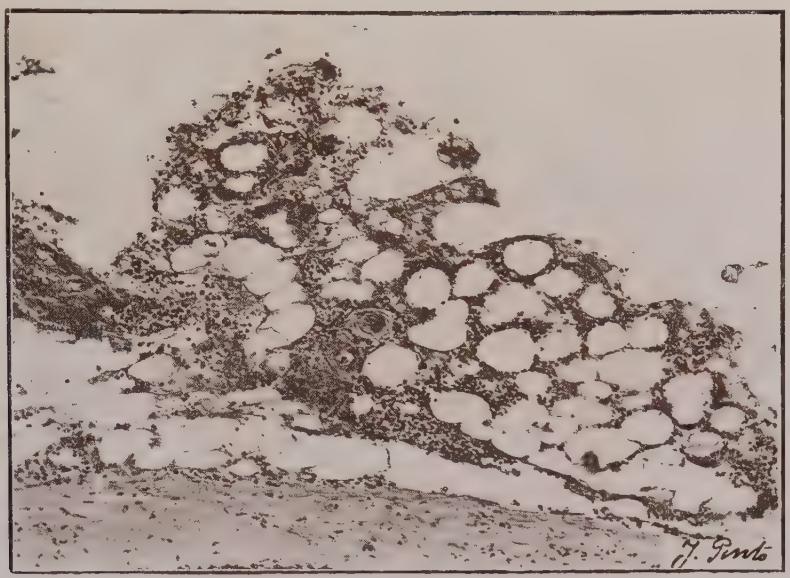
Drs. J. Vellard e M. Vianna : Pesquizas experimentaes sobre o veneno do sapo commum do Brasil *(Bufo marinus* L.).

11

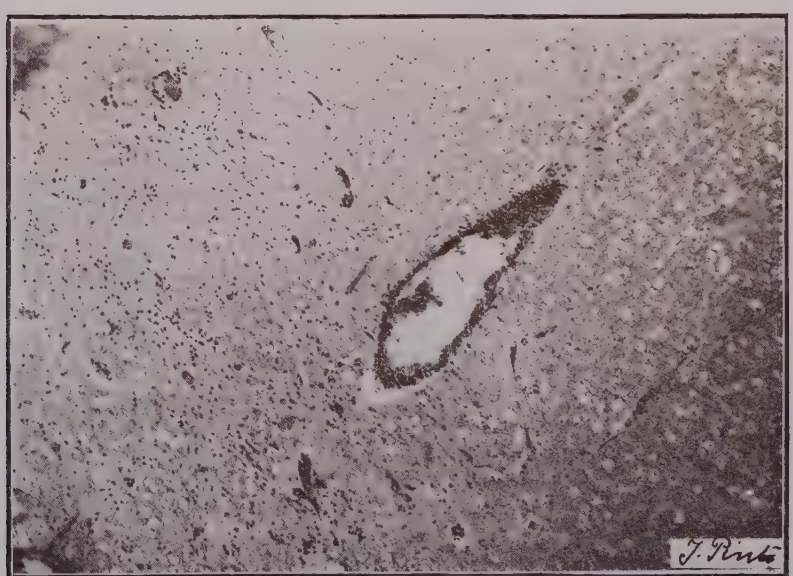
12

Photo J. Pinto.

Drs. J. Vellard e M. Vianna : Pesquizas experimentaes sobre o veneno do sapo commum do Brasil *(Bufo marinus* L.).



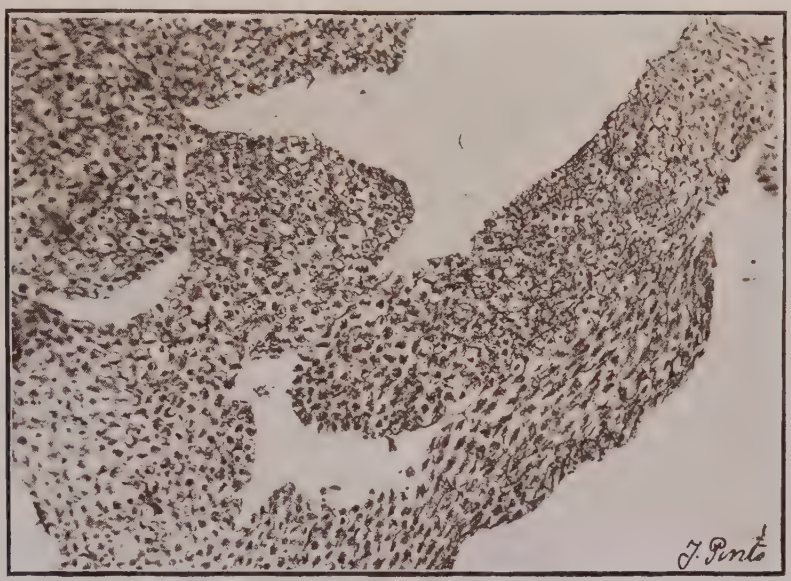
13



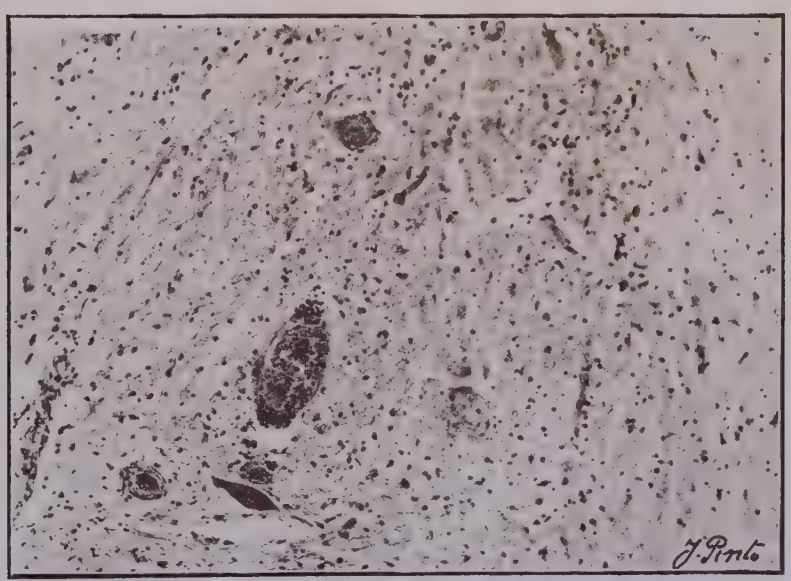
14

Photo J. Pinto.

Drs. J. Vellard e M. Vianna : Pesquizas experimentaes sobre o veneno do sapo commum do Brasil (*Bufo marinus* L.).



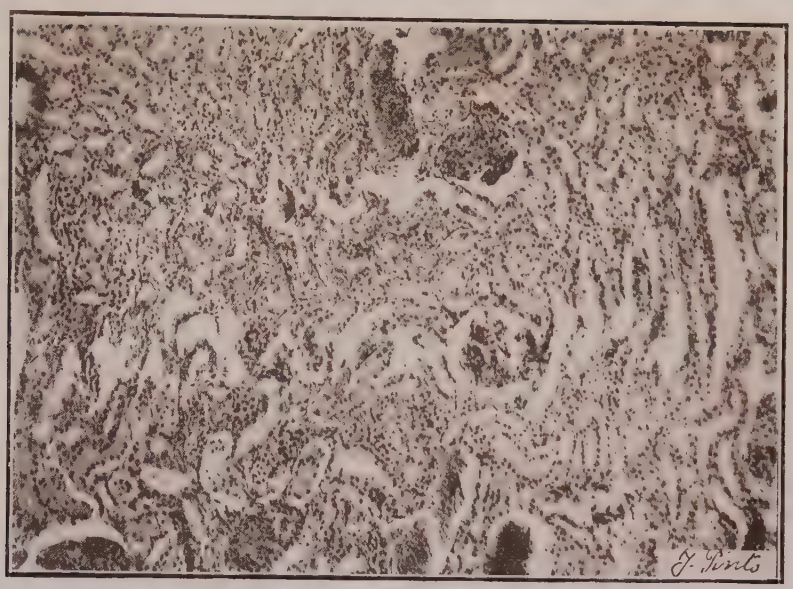
15



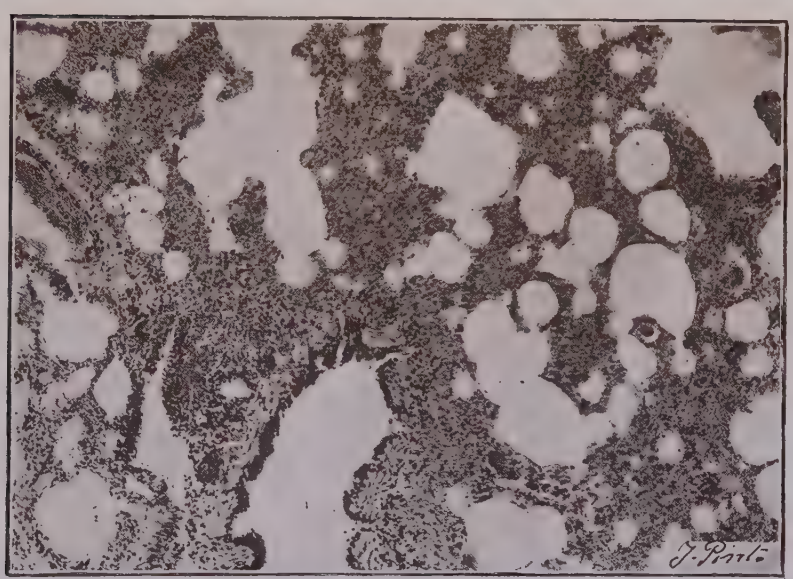
16

Photo J. Pinto.

Drs. J. Vellard e M. Vianna : Pesquizas experimentaes sobre o veneno do sapo commum do Brasil (*Bufo marinus* L.).



17



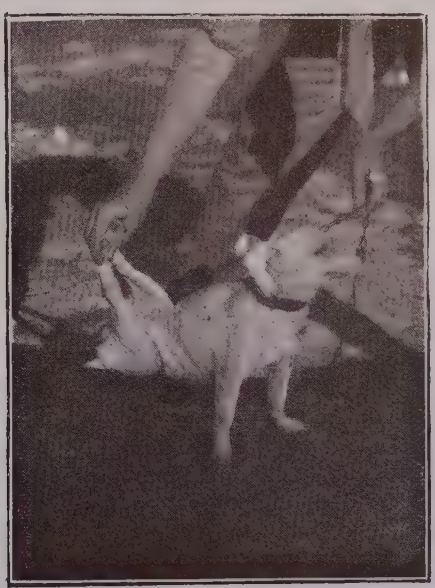
18

Photo J. Pinto.

Drs. J. Vellard e M. Vianna : Pesquizas experimentaes sobre o veneno do sapo commum do Brasil (*Bufo marinus* L.).

19

21



20

22

Photo J. Pinto.

Drs. J. Vellard e M. Vianna : Pesquizas experimentaes sobre o veneno do sapo commum do Brasil *(Bufo marinus* L.).

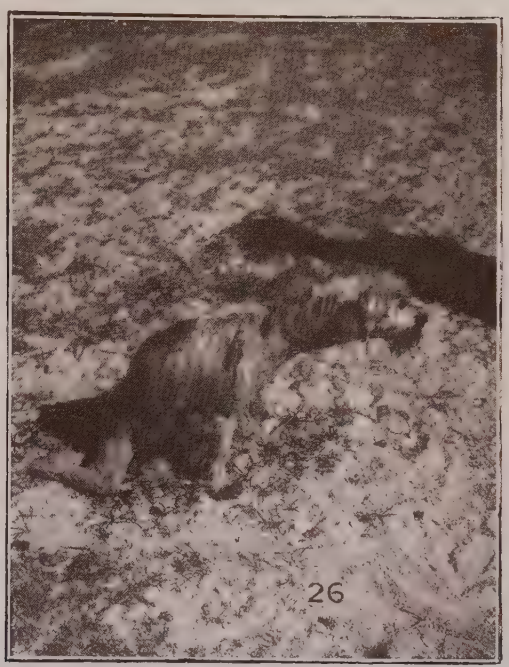
23

24

25

Photo J. Pinto.

Drs. J. Vellard e M. Vianna : Pesquizas experimentaes sobre o veneno do sapo commum do Brasil (*Bufo marinus* L.).



Drs. J. Vellard e M. Vianna : Pesquizas experimentaes sobre o veneno do sapo commum do Brasil *(Bufo marinus* L.).

Contribuições ao conhecimento das Heterophyidae (*)

(Trematoda)

por

LAURO TRAVASSOS

(Com as estampas XIII—XIV)

Os *Heterophyidae* encontrados no Brasil são representados até a data presente por 11 especies distribuidas em 5 generos. Um destes generos é considerado por Witenberg como dois, isto é, deu este helmintholo-gista valor generico aos sub-generos em que se divide o genero *Ascocotyle* (*Ascotyle* e *Phagicola*). Considerando deste modo serão as 11 especies distribuidas em 6 generos.

Na presente communicação descrevemos uma nova especie que constitue um novo typo generico muito caracteristico.

O novo parasito é hospede de «mergulhão» ou «atobá» (*Sula leucogastra*) ave marinha e de habitos exclusivamente ichthyophagos. Os exemplares parasitados foram capturados na bahia do Rio de Janeiro.

Da especie estudada fazemos as seguintes diagnoses, generica e especifica:

Lacerdaia n. g.

Heterophyidae. Corpo ovoide revestido de espinhos cuticulares. Extremidade anterior provida de uma corôa de espinhos peristomica. Ventosa oral reduzida; pre-pharynge muito curto, esophago curto; cecos curtos e largos, attingindo apenas o equador do corpo. Acetabulo equatorial. Poro genital pre-acetabular. Bolsa do cirro ausente; vesicula seminal muito desenvolvida e dobrada; testiculos com campos e zonas coincidindo parcialmente. Ovario pre-testicular; utero post-acetabular, envolvendo os testiculos e ovario; vitellinos lateraes desde a zona ovariana até a zona acetabular.

ESPECIE TYPO: *Lacerdaia lacerdai* n. sp.
HABITAT: Intestino de aves marinhas.

(*) Recebido para publicação a 10 de Dezembro de 1930.

Lacerdaia lacerdai n. sp.

(Est. XIII, figs. 1—4).

Comprimento 1,4 a 1,6 mm.; largura 0,7 a 0,8 mm.. Cuticula revestida de espinhos até perto da extremidade posterior; corpo de fórma ovoide e com um disco peristomico de cerca de 0,31 a 0,34 mm. de diametro e guarnecido por cerca de 34 espinhos medindo 0,043 mm. de comprimento por 0,012 a 0,013 mm. de largura maxima. Ventosa oral pequena, mal visivel. Acetabulo equatorial, com cerca de 0,11 a 0,12 mm. de diametro. Pharynge com cerca de 0,11 a 0,12 por 0,10 a 0,08 mm. Cecos largos sendo um ligeiramente mais longo que outro, medem cerca de 0,40 a 0,42 e 0,60 a 0,64 mm. Poro genital logo adiante do acetabulo. Bolsa do cirro ausente. Testiculos com campos e zonas coincidindo parcialmente, situados a meia distancia do acetabulo e da extremidade posterior do corpo; medem cerca de 0,22 por 0,11 a 0,14 mm. de diametros.

Ovario acima dos testiculos com cerca 0,14 a 0,17 mm. de diametro; utero com um ramo descendente e outro ascendente, envolvendo os testiculos e ovario, termina em longa vagina.

Ovos operculados, de casca castanho escuro, medec cerca de 0,019 a 0,024 por 0,013 a 0,015 mm. Vitellinos lateraes desde a zona acetabular até a zona ovariana.

HABITAT: Intestino delgado de *Sula leucogastra*.

O nome do genero e da especie é dado em homenagem a nosso illustre collega Dr. Abel Tavares de Lacerda.

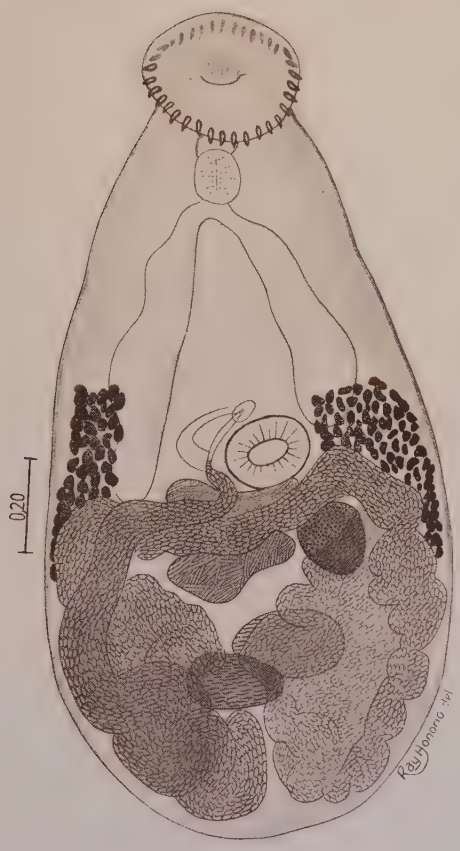
Em 1928 examinando *Poecilia januaria* capturadas nos mangues dos arredores da cidade de Santos encontrámos, enquistadas nos musculos *Metacercarias* de um trematodeo que deve ser incluido no novo genero agora descripto. Quanto a identidade especifica não nos podemos manifestar sem melhores estudos das *Metacercarias*, sobretudo sem pesquizas experimentaes.

Devemos salientar porém que a *Poecilia* é um peixinho de agua doce podendo se adaptar a agua salobra dos mangues, emquanto que a *Sula* prefere sempre as costas escarpadas do oceano onde nunca se encontram as *Poecilia*, sendo portanto um argumento contrario a identidade das especies. Por outro lado sendo pouco especifico o parasitismo das *Heterophyidade* pode se admittir uma pluralidade de hospedadores.

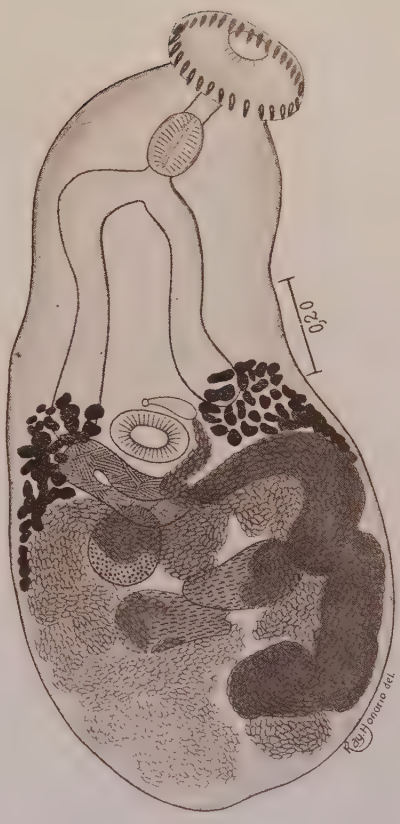
Ascocotyle (Phagicola) angrense Trav. 1916.

(Est. XIV, figs. 5—7).

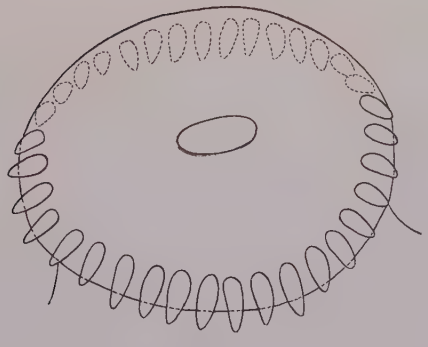
Examinando peixinhos de agua doce da especie *Phallocerus caudimaculatus* tivemos opportunidade de encontrar, nas branchias quistos con-



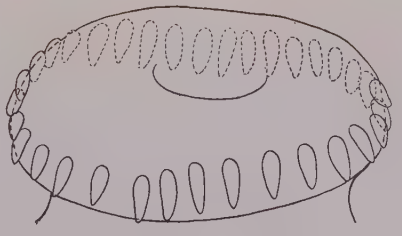
1



2

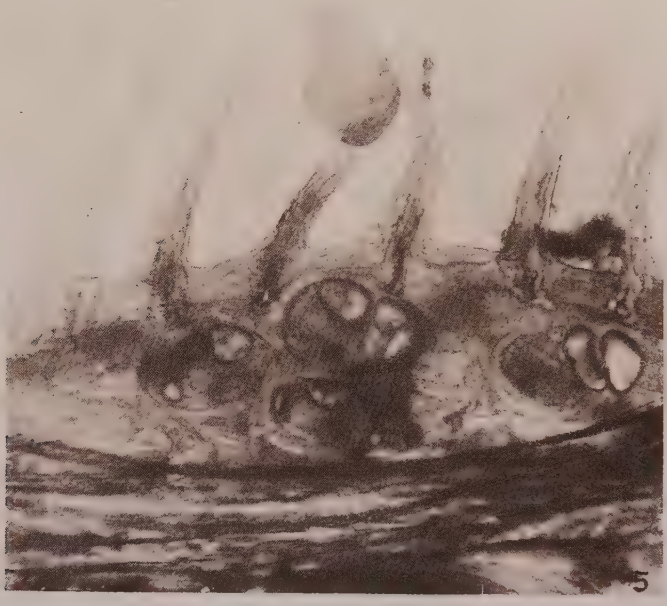


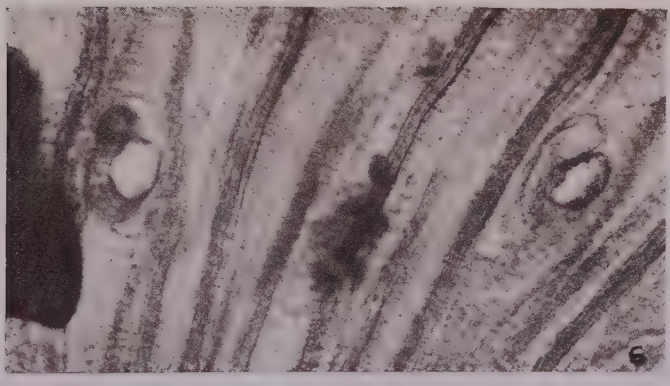
3



4

Lauro Travassos : Contribuições ao conhecimento das *Heterophyidae*.





Lauro Travassos : Contribuições ao conhecimento das *Heterophyidae.*

tendo *Metacercarias* de *Ascocotyle (Phagicola) angrense*. Estes quistos eram situados nas laminas das branchias e no arco (figs. 5—6), mediam cerca de 0,35 por 0,21 a 0,22 mm. (fig. 7).

No quisto encontra-se a *Metacercaria* completamente desenvolvida, com a corôa caracteristica e algumas vezes apresentando no utero ovos abortados, evidentemente por falta de fecundação.

A metacercaria retirada do quisto tem as seguintes dimensões: Comprimento 0,5 a 0,6 mm.; ventosa oral: 0,045 mm.; espinhos da corôa 0,018 por 0,005 mm.; acetabulo 0,040 mm.; pharynge 0,027 por 0,005 mm.; cecos 0,16 mm.

Tentamos obter a fórma adulta em gatinhos, resultando porém negativas as tentativas de infestação.

EXPLICAÇÃO DAS ESTAMPAS XIII—XIV

ESTAMPA XIII

Figs. 1—2.—*Lacerdaia lacerdai*, total.
Figs. 3—4.—*Lacerdaia lacerdai*, corôa peristomica.

ESTAMPA XIV

Fig. 5.—*A. (P.) angrense*, quistos situados no arco branchial.
Fig. 6.—*A. (P.) angrense*, quistos situados nas laminas branchiaes.
Fig. 7.—*A. (P.) angrense*, quisto isolado.

Sobre as especies dos generos Sabethes e Sabethoides (*)

(Diptera: Culicidae)

pelo

DR. A. DA COSTA LIMA

(Com as estampas XV—XVII)

Nas linhas que se seguem considerarei primeiramente as especies do genero *Sabethes*, estudando, em seguida, as do genero *Sabethoides*.

Estes mosquitos e os do genero *Megarhinus*, pelas brilhantes côres que apresentam, são incontestavelmente os mais bellos culicideos que existem.

As especies de *Sabethes* são facilmente reconheciveis pelos conspicuos tufos lateraes de longas escamas piliformes nas pernas, que lhes dão o aspecto de remos.

Dyar, em seu ultimo trabalho (1928), distribuio-as na seguinte chave:

1.	Tufos sómente nas pernas medias	2.
1a.	Tufos nas pernas medias e anteriores	5.
1b.	Tufos nos 3 pares de pernas	7.
2(1).	Tufos sómente nas tibias medias	*remipusculus* Dyar
2a.	Tufos nas tibias e tarsos medios	3.
3(2a).	Pernas sem manchas brancas	4.
3a.	Manchas brancas em alguns tarsos	*biparlipes* Dyar & Knab
4(3).	Côres abdominaes separadas em linha recta; tufos tarsaes, nos 2 primeiros articulos	*cyaneus* Fabricius
4a.	Côres abdominaes separadas em linha irregular; tufos tarsaes, apenas no 1º articulo	*albiprivus* Theobald
4b.	Faixas purpureas dos segmentos abdominaes quasi attingindo a linha ventral	*neivai* Petrocchi
5(1a).	Tibias medias com uma mancha de escamas brancas entre a base e o tufo de escamas negras	*tarsopus* Dyar & Knab
5a.	Tibias medias sem mancha branca	6.

(*) Recebido para publicação a 9 de Janeiro de 1931.

6(5a).	Tufos das pernas medias brancas na porção apical	*amazonicus* Gordon & Evans
6a.	Tufos das pernas medias inteiramente negros	*longfieldae* Edwards
7(1b).	Tarsos marcados de branco	8.
7a.	Tarsos não marcados de branco	*lutzii* Theobald
8(7).	2º, 3º e 4º articulos dos tarsos anteriores marcados de branco	*goeldii* Howard, Dyar & Knab
8a.	Apenas um lado do 2º articulo dos tarsos anteriores marcados de branco	*schausi* Dyar & Knab

Passo, agora, a tratar de cada uma destas especies, segundo a divisão a que pertencem.

1ª. Remos de escamas nos 3 pares de pernas.

Sabethes lutzii Theobald, 1903.

Lutz (1905), a respeito desta especie, disse o seguinte:

> «Na sua monographia, vol. III, pag. 323, Theobald refere-se, sob o nome de S. Lutzii, a um novo sabethes, vindo de Manáos. Não podemos dar uma descripção minuciosa desta especie, porque o typo que nos chegou ás mãos, já muito defeituoso, esmigalhou-se todo. Não pode, porém, haver duvida que se tratava de uma especie nova, sendo o typo bastante grande, de côr uniforme azul metallico muito escura e munido de appendices pilosos, em fórma de remos em todos os pares de pernas. Com estes dados será facil reconhecer a especie logo que appareça outro exemplar».

A julgar pelos caracteres assignalados por Theobald e confirmados por Lutz, *S. lutzii* differe apenas da especie que tratarei adiante, por não ter os tarsos marcados de branco. E' bem possivel, entretanto, conforme suggerio Dyar (1928), que *lutzii* seja uma variação dessa especie, que passaria então a ter o nome dado por Theobald.

Sabethes belisarioi Neiva, 1908.

Sabethes schausi Dyar & Knab, 1908.
Sabethes goeldii Howard, Dyar & Knab, 1915.
Sabethes argyronotum Edwards, 1928.

Os autores que estudaram *S. schausi* e *S. goeldii*, consideram-nas especies differentes por se apresentar a primeira com as pernas anteriores e medias menos marcadas de branco que na segunda. De facto, em *S. schausi* as pernas anteriores, ou não têm marcas brancas, ou sómente o

2º articulo tarsal é que é mais ou menos marcado de branco. Em *S. goeldii,* taes pernas apresentam o 2º, o 3º e o 4º articulos tarsaes mais ou menos marcados de branco. Entretanto Dyar (1928), com toda a razão, julga *S. schausi* uma variação de *goeldii,* considerando tambem, nas mesmas condições, *S. belisarioi* Neiva e *S. argyronotum* Edwards, 1928. Apenas commetteu o erro de considerar *S. belisarioi* como tendo sido descripto em 1922, quando, de facto, Neiva descreveu a especie no numero do *Brazil-Medico* de 22 de setembro de 1908 (volume XXII), um mez portanto antes da descripção de *schausi,* feita no numero do *Proc. U. S. Nat. Mus.*, de 30 de outubro do mesmo anno.

Na collecção de mosquitos guardada no laboratorio do Dr. Lutz, ha um bom exemplar de *S. belisarioi,* rotulado por Neiva, com as seguintes indicações: «Rio das Velhas, Minas Geraes, 3 — 08».

Terminalia do macho e larva, ainda não descriptas.

HABITAT: Trinidad, Guyanas, Venezuela, Bolivia e Brazil, do extremo norte até Minas Geraes e Matto Grosso.

2ª. *Remos de escamas nas pernas medias e anteriores.*

Sabethes tarsopus Dyar & Knab, 1908.

Terminalia do macho e larva, ainda não descriptas.

HABITAT: Costa Rica, Panamá e Venezuela.

Sabethes amazonicus Gordon & Evans, 1922.

Sabethes kappleri Bonne, 1923.

Terminalia do macho e larva, ainda não descriptas.

HABITAT: Surinam, Brazil (Amazonas).

Sabethes longfieldae Edwards, 1928.

Terminalia do macho e larva, ainda não descriptas.

HABITAT: Brazil (Matto Grosso).

A julgar pelas descripções dos autores destas 3 especies, é bem provavel que *S. amazonicus* e *S. longfieldae* sejam variações regionaes de *S. tarsopus.*

3ª. *Remos de escamas, sómente nas pernas medias (abrangendo a tibia e o metatarso).*

Sabethes bipartipes Dyar & Knab, 1906.

Sabethes nitidus Theobald, 1901 *pro parte.*
Sabethes chroiopus Dyar & Knab, 1913.

Esta especie distingue-se das demais desta divisão por apresentar escamas brancas nos articulos tarsaes das pernas medias (apice do 1º e base do 2º.

Terminalia do macho já descripta (vid. Dyar, 1922). Larvas descriptas por Bonne e encontradas em buraco de arvore e em folha de bananeira cahida ao sólo.

HABITAT: Antilhas, Guyana, Equador e Brazil.

Sabethes cyaneus (Fabricius, 1805)

Culex cyaneus Fabricius, 1805.
Sabethes locuples Robineau-Desvoidy, 1827.
Culex remipes Wiedemann, 1828.

De todos os *Sabethes* que conheço é este a maior especie. Distingue-se facilmente da especie seguinte porque a côr azul metallica do dorso do abdomen é separada da côr prateada ou dourada da face ventral em uma linha quasi recta, sem grandes recortes. Na collecção do Dr. Lutz ha 4 exemplares sem indicação de procedencia.

Para a genitalia do macho vid. Dyar (1922). A larva ainda não foi descripta, não obstante ter sido encontrada, em buraco de arvore, no Panamá.

HABITAT: Honduras, Panamá, Venezuela, Trinidad, Guyana, Brazil (Amazonas, Pará e Rio de Janeiro).

Sabethes albiprivus Lutz, in Theobald, 1903.

Sabethes albiprivatus Lutz, in Bourroul, Mosq. do Brazil, 1904.
Sabethes albiprivatus Lutz, 1905, Sciencia Medica, 13 (11): 203.
Sabethes neivai Petrocchi, 1926, Rev. del Inst. Bact. del Dept. Nac. de Hyg., 4 (7): 725.

Trata-se de uma especie relativamente commum no Brasil. Ha na collecção de mosquitos, guardada no laboratorio do Dr. Lutz, uma dezena

de especimens de varias procedencias: Nictheroy (Estado do Rio), Tijuca (Capital Federal) e Noroeste de São Paulo. O exame de todos esses especimens demonstra ser a especie susceptivel de notaveis variações, não só no comprimento do corpo (de 5 mm. até 4 mm.), como na côr das escamas que revestem o thorax e o abdomen. As escamas do dorso do abdomen podem dar a essa parte do corpo e ás cintas basaes dos uromeros uma côr que varia do azul metallico ao purpureo, notando-se o mesmo com as escamas que ornam a região occipital. Quanto ás escamas do mesonoto, ou são verde-douradas de pavão ou mesmo de um azul metallico.

As differenças especificas entre *S. neivai* e *S. albiprivus,* baseadas nas cintas purpureas abdominaes se approximarem mais ou menos da linha ventral, ao meu ver, não podem prevalecer, pois as mesmas, como se nota nos nossos especimens, tambem variam de extensão. Dahi considerar *S. neivai* na synonymia de *S. albiprivus.*

A terminalia do macho desta especie já foi descripta (v. Dyar, 1928). A larva ainda não foi descripta.

HABITAT: Surinam, Guyanas, Brazil (Rio de Janeiro, Estados do Rio, Minas e S. Paulo) e Republica Argentina.

Além destas deveria ainda citar o *Sabethes purpureus,* considerado pelos autores estrangeiros como sendo de Peryassú. De facto, este autor o descreveu no seu trabalho (Os Culicideos do Brazil, 1908, pag. 287), juntando apenas ao nome especifico «n. sp.». Todavia, na chave geral das especies do genero *Sabethes* (pag. 54) elle o designa claramente: *S. purpureus* Neiva, n. sp. Assim sendo, de accôrdo com o art. 21 das Regras de Nomenclatura, é autor da especie Neiva e não Peryassú. Tendo Dyar, em 1924, incluido todas as especies de *Sabethoides* no genero *Sabethes,* inclusive o *Sabethoides purpureus* Theobald, teve de dar ao *Sabethes purpureus,* descripto no livro de Peryassú, o novo nome *S. remipusculus.* Não vejo porém razão para elle ter mantido este novo nome em seu ultimo trabalho (1928), quando resolveu novamente manter distinctos os generos *Sabethes* e *Sabethoides.* Deveria então ter considerado as duas especies com os nomes seguintes:

1ª.—*Sabethoides purpureus* Theobald, 1907.
Sabethes purpureus (Theobald, 1907) Dyar, 1924.
2ª.—*Sabethes purpureus* Neiva, in Peryassú, 1908.
Sabethes remipusculus Dyar, 1924.

Na collecção do Instituto encontrei 3 exemplares apanhados em Juiz de Fóra (Minas Geraes), em 1906 e 1907, e 2 em Cambuquira (Minas Geraes), todos rotulados por Neiva e determinados como *Sabethes purpureus* Neiva. Examinando-os verifiquei que apresentam os caracteres da especie *Sabethoides purpureus* Theobald, 1907. Apenas as escamas que formam as manchas lateraes do 2º ao 7º uromeros, são douradas ou douradoprateadas, differenciando-se, assim, das que revestem lateralmente o 1º uromero, que são prateadas. *Não ha remos de escamas na extremidade apical das tibias medias*. Nota-se apenas que estas são ahi um pouco mais dilatadas (como tambem as das tibias posteriores) e revestidas de algumas escamas, um tanto eriçadas, sem, todavia, formar os remos de escamas, caracteristicos do genero *Sabethes*.

Na collecção que estou organisando no meu gabinete, um dos exemplares typicos de Neiva, de Juiz de Fóra, acha-se no vidro 505 e os 2 exemplares de Cambuquira (Minas), nos vidros 506 e 507. Os demais especimens continuam na collecção do laboratorio do Dr. Lutz.

Uma das azas do exemplar do vidro nº 505 foi montado na preparação nº 1092 (fig. 3).

Passo agora a tratar das especies de *Sabethoides*. Taes mosquitos, evidentemente muito proximos dos do genero *Sabethes*, principalmente pelo aspecto das azas, destes, entretanto, se distinguem por não apresentarem nas pernas os caracteristicos tufos lateraes de escamas filiformes, dispostas em fórma de remos.

Acho que se poderia considerar o genero *Sabethoides* com dois sub-generos, *Sabethoides* Theobald, 1903 e *Sabethinus* Lutz, 1904, não sómente pelos caracteres differenciaes observados nos adultos e assignalados por Lutz (1904) e por Howard, Dyar & Knab (1915) (proboscida longa e fina, do tamanho do abdomen e não distinctamente dilatada no apice, em *Sabethoides*; curta, mais robusta e com o apice entumecido em *Sabethinus*), como pela presença, nas larvas de *Sabethinus*, de 2 ganchos no dorso do 7º segmento abdominal, caracter este tambem frisado por aquelles autores.

O typo de *Sabethoides* é o *S. confusus* Theobald, 1907.

O typo de *Sabethinus* é o *S. intermedius* Lutz, 1904.

Ao subgenero *Sabethoides* pertencem as seguintes especies:

Sabethoides chloropterus (Humboldt, 1820).

Culex chloropterus Humboldt, 1820.
Sabethes nitidus Theobald, 1901.
Sabethoides confusus Theobald, 1903.
Sabethoides rangeli Surcouf et Gonzalez Rincones, 1911.

A terminalia do macho já foi descripta (vid. Dyar, 1928). As larvas, descriptas por Evans (1922) foram encontradas em um buraco de arvore, perto de Manáos (Amazonas).

HABITAT: Mexico, Costa Rica, S. Salvador, Nicaragua, Panamá, Trinidad, Venezuela, Guyanas, Brazil (Amazonas, Bahia, Rio de Janeiro, São Paulo e Minas Geraes) e Republica Argentina.

Sabethoides imperfectus Bonne-Wepster & Bonne, 1920.

Lutz, ha tempos, trouxe de Maracay (Venezuela) varios exemplares de *Sabethoides*, uns com caracteres de *S. chloropterus*, isto é, com as escamas brancas do abdomen mais ou menos esparsas, não formando manchas bem delineadas, outros, em que taes escamas se acham mais ou menos reunidas e formando placas, com caracteres, portanto, de *S. imperfectus*. D'ahi acreditar que esta ultima especie não seja senão uma variação de *S. chloropterus*.

A aza de um destes exemplares foi montada em lam. 1089 (fig. 1). Terminalia do macho e larva, ainda não descriptas.

HABITAT: Surinam e Guyana Ingleza.

Sabethoides glaucodaemon Dyar & Shannon, 1925.

HABITAT: Surinam e Guyana Ingleza.

No mez de dezembro de 1912 encontrei em Obidos, juntamente com larvas de *Wyeomyia bromeliarum* [1], larvas e pupas de um *Sabethoides* (*Sabethoides*) que me parece ser desta especie, por apresentar as côres ab-

[1] Em artigo anterior (Nota sobre a *Wyeomyia* (*Dendromyia*) *luteoventralis* Theobald, 1910—1930, Memorias do Inst. Ozwaldo Cruz, 24 (1): 35—39), conclui pela identidade de *bromeliarum* com *luteoventralis*. Edwards, entretanto, em carta que me escreveu ha pouco tempo, baseado no material do British Museum, considera as 2 especies differentes, achando que o mosquito por mim examinado deva ser a *W. bromeliarum* e não *D. luteoventralis*.

dominaes, de cada lado, relativamente bem separadas, em linha recta. Nos meus exemplares (guardados nos vidros n°s. 590-592 da collecção do Gabinete de Entomologia da Escola Sup. de Agric. e Med. Veter.), as escamas brancas dos tarsos medios do 2° ao 5° revestem principalmente a face externa, extendendo-se tambem um pouco para a face interna, porém sem envolver totalmente aquelles articulos.

Na collecção entomologica do Instituto acham-se os preparados da aza (lamina n° 1090, fig. 2) e da terminalia de um macho (lamina n° 648, fig. 4).

As larvas deste *Sabethoides,* segundo as notas que escrevi na occasião em que as apanhei, pelo aspecto geral e côr esbranquiçada que apresentam, lembram as de *Limatus*. Quando vêm a tona d'agua para respirar, ficam verticalmente dispostas em relação á superficie. Infelizmente, tendo declarado nessas antigas notas que as larvas eram muito semelhantes ás de *Wyeomyia bromeliarum,* não tive o cuidado de desenhal-as.

Em relação á terminalia do macho, observo os seguintes caracteres: 2 grandes cerdas na peça lateral, uma perto da base e outra perto do apice. Não ha o tuberculo chitinisado, com 2 pequenas cerdas, perto do apice da peça lateral, que se vê na figura de Dyar do *S. chloropterus*. A pinça (clasper) é distinctamente dilatada acima da base, alargada no apice e ahi apresentando um lobulo ou ramo curto, achatado e alargado, tendo na margem apical 2 ganchos ou dentes fortemente chitinisados (um maior, outro menor) e varias cerdas fracamente esclerosadas e gradativamente menores, do gancho mais robusto para fóra. Na base deste lobulo ha uma area revestida de pilosidade muito fina e tambem nella se insere um grande ramo, laminado, que se dirige para a base da pinça, alargando-se na parte livre posterior e ahi, em cotovello, bruscamente curvando-se para dentro e para diante, formando então uma longa lamina achatada e bem chitinisada, fortemente recurvada, que se apresenta bifida e mais chitinisada na extremidade. Esta lamina, por sua vez, emitte inferiormente uma lingueta, laminada, para traz, recurvando-se depois para fóra e para dentro e terminando em um feixe de finas cerdas. Além da lingueta, a referida lamina, no bordo superior, opposto áquelle em que se insere a lingueta, apresenta, pouco depois da curvatura basal, uma pequena lamina, terminando em um tufo de finas cerdas, que se vê, na photomicrographia, pouco abaixo do appendice bifido. Decimos esternitos um tanto dilatados na base, de apices recurvados e divergentes, que se apresentam com 3 dentes. Nonos tergitos apresentam 6 cerdas, mais largas na base, não dilatadas no meio, como em *chloropterus*.

As especies do subgenero *Sabethinus* podem ser distribuidas em 2 divisões:

1º—*Lobulos prothoraxicos revestidos de escamas enegrecidas, sem reflexo metallico, havendo tambem escamas brancas na base e no apice:*

Sabethoides serratoria Dyar & Núñez Tovar, 1927.

Terminalia do macho e larva, desconhecidas.

HABITAT: Venezuela e Republica Argentina.

Sabethoides moerbista (Dyar & Knab, 1919).

Terminalia do macho e larva, desconhecidas.

HABITAT: Guyana Ingleza.

2º—*Lobulos prothoraxicos revestidos de escamas com reflexo metallico, de azul ao purpureo.*

As especies desta divisão são separadas, pelo aspecto do abdomen, em 2 subdivisões.

a) Abdomen revestido, em cima, de escamas com reflexo purpureo e, em baixo, de escamas douradas. Aquellas, ao lados do 4º e 5º, 6º e 7º segmentos, formam cintas largas que se prolongam até a crista inferior do abdomen. Nos mesmos segmentos, as escamas douradas formam manchas basaes, até o meio das faces lateraes do abdomen.

O aspecto do abdomen é, pois, exactamente identico ao que se observa em *Sabethes albiprivus*.

A esta subdivisão pertence a seguinte especie:

Sabethoides purpureus Theobald, 1907.

Sabethes purpureus Neiva, in Peryassú, 1908.
Sabethes remipusculus Dyar, 1924.
Sabethoides purpureus Dyar, 1928.

Terminalia do macho e larva, desconhecidas.

V. considerações anteriormente feitas sobre esta especie.

HABITAT: Juiz de Fóra, Cambuquira (Minas Geraes) e Rio de Janeiro.

b) Abdomen revestido de escamas com reflexo metallico, de côr variavel, do azul ao purpureo, porém não formando cintas como na especie precedente e sim, de cada lado, 6 prolongamentos triangulares, cujo apice não attinge a crista inferior do abdomen. Dahi esta se apresentar inteiramente revestida de escamas douradas, que cobrem tambem os espaços entre os triangulos acima descriptos.

A esta subdivisão pertencem as seguintes especies:

Sabethoides intermedius (Lutz, 1904).

Sabethinus intermedius Lutz, 1904, in Bourroul, Mosq. do Brasil.
Sabethinus intermedius Lutz, 1905, Imprensa Medica, 13:348-349.

Larva desconhecida.

HABITAT: São Paulo e Minas Geraes.

Encontrei na collecção do Instituto, além de outros exemplares, 3 de Petropolis (E. do Rio) (2 femeas e 1 macho), que me parecem pertencer a esta especie. Os principaes caracteres da terminalia do macho podem ser observados nas figs. 6 e 7. No meio da peça lateral, do lado interno, além de algumas pequenas cerdas, insere-se apenas uma robusta cerda, mais longa que a pinça; esta, além das peças da região apical, apresenta um prolongamento membranoso, adherente a um dos lados, em quasi toda a sua extensão, acotovellado em baixo, perto da base da pinça. A parte terminal da pinça é constituida por um lobulo alargado e chato, fimbriado em toda o bordo apical, o qual emitte um prolongamento laminado, que se recurva, primeiramente approximando-se da pinça e logo em seguida della se afastando para terminar em uma especie de clava finamente pilosa de um lado. Na primeira curvatura, o referido prolongamento apresenta algumas cerdas relativamente robustas. Decimos esternitos triangulares, de apice recurvado e apresentando cerca de 6 denticulos. Nonos tergitos, de cada lado, apresentando 7 cerdas robustas e ponteagúdas. Os lobulos em relação com a base das peças lateraes apresentam-se apenas revestidos de pellos finissimos, porém sem as 2 cerdas robustas, assignaladas na descripção de *S. undosus* e *S. identicus* (=*S. aurescens*). Os lobulos lateraes do 8º uromero são densamente revestidos de longas cerdas.

Sabethoides aurescens (Lutz, 1905).

Sabethinus aurescens Lutz, 1905, Imprensa medica, 13:350.
Sabethoides aurescens Theobald, 1907.
Sabethes identicus Dyar & Knab, 1907.

Terminalia do macho e larva, já descriptas (vid. Dyar, 1922).

HABITAT: Panamá, Venezuela, São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Geraes.

Não encontrei nas collecções do Instituto um exemplar perfeito desta especie. Segundo Lutz:

> «O aurescens differencia-se principalmente do intermedius pela côr dourada geral, distincta de côr azul escura de intermedius, e mais pelo colorido do clypeus (ochraceo alaranjado—bom caracter differencial) e dos pellos da raiz das azas (francamente dourados)».

Diz tambem Lutz, na sua descripção, que o ultimo articulo tarsal do par posterior é côr de outro pallido, quasi branco.

No anno passado recebi uma larva colhida em internodio de bambú, no Alto da Bôa Vista (Tijuca — Rio) por Carlos Alberto C. Seabra. Essa larva morreu antes de se transformar em pupa. A pelle, montada na preparação nº 1057, apresenta os principaes caracteres assignalados na descripção da larva de *Sabethoides aurescens*, feita no livro de Dyar (1928). Os ganchos do 7º uromero são bifidos. As maxillas, porém, como se pode vêr na fig. 5, apresentam o gancho terminal, 3 robustos dentes e, abaixo destes, 4 denticulos, 2 maiores, iguaes, a dois menores, tambem iguaes.

Sabethoides undosus Coquillett, 1906.

Terminalia do macho e larva, já descriptas (vid. Dyar, 1922).

HABITAT: Nicaragua, Panamá, Trinidad e Venezuela.

Sabethoides albiprivatus (Lutz, in Theobald, 1907).

Sabethinus albiprivatus Lutz, in Theobald, 1907.
Sabethes melanonymphe Dyar, 1924.
Sabethoides melanonymphe (Dyar, 1924).

Terminalia do macho e larva, desconhecidas.

HABITAT: São Paulo.

A unica differença notavel entre esta especie e as outras desta divisão é apresentar *o mesonoto revestido de escamas de côr azul metallica brilhante*. Devo, entretanto, dizer que os especimens da collecção de Lutz,

determinados como *Sabethinus albiprivatus*, me parecem perfeitamente identicos aos da mesma collecção, determinados como *S. intermedius*. Assim, sou levado a acreditar que *S. albiprivatus* Lutz deva ser considerado synonymo de *S. intermedius* Lutz. Aliás, a côr azul das escamas do mesonotum, apresentada como caracter differencial, não me parece ter importancia especifica, porquanto, noto, na serie de exemplares de *Sabethes albiprivus*, um cujo mesonoto se apresenta com escamas de côr azul metallica e outros com a mesma região revestida de escamas verdes, com reflexo dourado.

De accôrdo com as considerações feitas neste artigo, apresento, a seguir, a chave das especies de *Sabethes* e de *Sabethoides*.

CHAVE DAS ESPECIES DE SABETHES

1.	Remos de escamas piliformes nos 3 pares de pernas	2.
1a.	Remos nas pernas medias e anteriores	3.
1b.	Remos sómente nas pernas médias	5.
2(1).	Tarsos marcados de branco	*belisarioi* Neiva.
2a.	Tarsos não marcados de branco	*lutzii* Theobald
3(1a).	Escamas brancas nas tibias medias, entre o tufo e a base	*tarsopus* Dyar & Knab
3a.	Tibias medias sem taes marcas brancas	4.
4(3a).	Remos das pernas medias com escamas brancas no apice	*amazonicus* Gordon & Evans
4a.	Remos das pernas medias inteiramente negros	*longfieldae* Edwards.
5(1b).	Tarsos das pernas médias marcados de branco	*bipartipes* Dyar & Knab.
5a.	Tarsos das pernas medias não marcados de branco	6.
6(5a).	Côres abdominaes separadas lateralmente em uma linha quasi recta	*cyaneus* Fabricius
6a.	Côres abdominaes separadas, em recortes	*albiprivus* Lutz.

CHAVE DAS ESPECIES DE SABETHOIDES

1.	Proboscida relativamente longa e adelgaçando-se para a extremidade, tão longa ou mais longa que o abdomen *(Sabethoides)*	2.
1a.	Proboscida curta, mais curta que o abdomen, dilatando-se para a extremidade *(Sabethinus)*	4.
2(1).	Côres abdominaes confundindo-se lateralmente	3.
2a.	Côres abdominaes separadas lateralmente em uma linha quasi recta	*glaucodaemon* Dyar & Shannon.
3(2).	Abdomen com manchas lateraes de escamas brancas	*imperfectus* Bonne-Wepster & Bonne.
3a.	Abdomen, lateralmente, com as escamas brancas não formando manchas bem delineadas	*chloropterus* Humboldt

4(1a). Lobulos prothoraxicos revestidos de escamas escuras, sem reflexos metallicos, e brancas, na base e no apice — 5.

4a. Lobulos prothoraxicos revestidos de escamas com reflexo metallico, de azul ao purpureo — 6.

5(4). Tarsos das pernas medias marcados de branco — *serratoria* Dyar & Núñez Tovar

5a. Tarsos das pernas medias não marcados de branco — *moerbista* Dyar & Knab.

6(4a). Abdomen com as escamas da parte dorsal purpureas, formando cintas, que se prolongam até a crista ventral — *purpureus* Theobald.

6a Abdomen com as escamas da parte dorsal de côr variavel, porém formando recortes triangulares, cujo apice não attinge a crista ventral — 7.

7(6a). Pernas posteriores com o 5º articulo tarsal distinctamente branco em baixo — *undosus* Coquillet.

7a. Pernas posteriores com o 5º articulo tarsal ou não marcado de branco ou revestido de escamas côr de ouro pallido, quasi branca — *intermedius* Lutz e *aurescens* Lutz.

BIBLIOGRAPHIA

BONNE-WEPSTER, J. & BONNE, C.

1919.—Diagnoses of new mosquitoes from Surinam, with a note on synonymy.
Ins. Ins. Mens., 7: 165—166.

1921.—Notes on south-american mosquitoes in the British Museum.
Ins. Ins. Mens., 9: 1—5.

1925.—Mosquitoes of Surinam.
Royal Colonial Institute of Amsterdam, p. 23—45.

BOURROUL, C.

1904.—Mosquitos do Brazil. These de Doutoramento, Bahia.

DYAR, H. G.

1919.—A revision of the american Sabethini of the Sabethes group by the male genitalia.
Ins. Ins. Mens., 7: 118—120.

1922.—Illustrations of the male hypopygium of certain Sabethids.
Ins. Ins. Mens., 10: 61—62.

1924.—A note on Sabethes Robineau—Desvoidy.
Ins. Ins. Mens., 12: 97—100.

1925.—The mosquitoes of Panamá
Ins. Ins. Mens., 13: 104—108.

1928.—The mosquitoes of the Americas.
Carneg. Inst. Washington, p. 8—24.

HOWARD, L. O., DYAR, H. G. & KNAB, F.

1915.—The mosquitoes of North and Central America and the West Indies, III, 1: 1—40.

LUTZ, A.

1905.—Novas especies de mosquitos do Brasil.
Imp. Med., 13: 203—204; 348—350.

EXPLICAÇÃO DAS ESTAMPAS XV—XVII

ESTAMPA XV

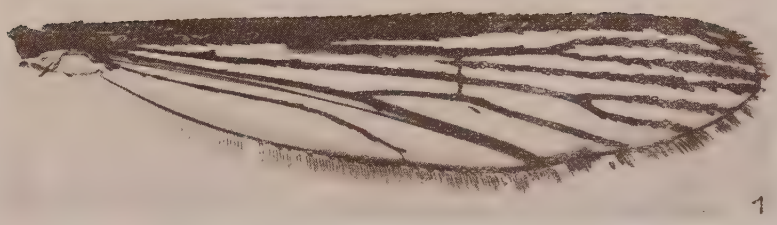
Fig. 1.—*Sabethoides imperfectus*. Aza montada na prep. 1089 (× 25).
Fig. 2.—*Sabethoides glaucodaemon*. Aza montada na prep. 1090 (× 25).
Fig. 3.—*Sabethoides purpureus*. Aza montada na prep. 1092 (× 25).

ESTAMPA XVI

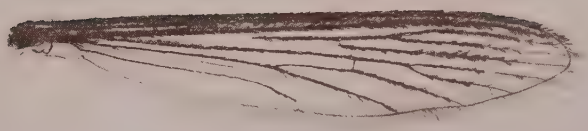
Fig. 4.—*Sabethoides glaucodaemon*. Terminalia do macho, montada na prep. 648.
Fig. 5.—*Sabethoides aurescens*. Parte cephalica da exuvia larval, montada na prep. 1057 (× 65).

ESTAMPA XVII

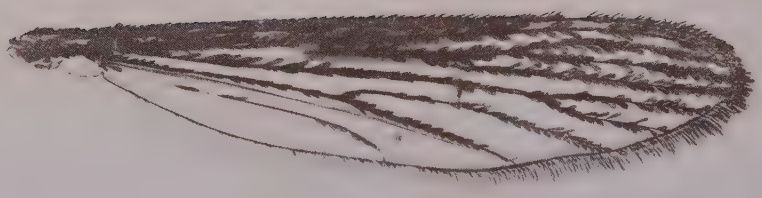
Figs. 6-7.—*Sabethoides intermedius*. Peça basal e pinça da terminalia do macho (× 125).



1



2



3

Photo J. Pinto.

Dr. Costa Lima : Sobre as especies dos generos *Sabethes* e *Sabethoides*.

Photo J. Pinto.

Dr. Costa Lima : Sobre as especies dos generos *Sabethes* e *Sabethoides*.

Photo J. Pinto.

Dr. Costa Lima : Sobre as especies dos generos *Sabethes* e *Sabethoides*.

Nota sobre sabethineos do grupo Joblotia (*)

(Diptera: Culicidae)

pelo

DR. A. DA COSTA LIMA

(Com as estampas XVIII—XXVI)

Os generos *Joblotia, Goeldia* e *Isostomyia,* constituidos por mosquitos que apresentam entre si grandes affinidades morphologicas (grupo *Joblotia,* da tribu *Sabethini,* de Dyar), foram considerados validos por Dyar em seu ultimo trabalho (1928).

Alguns autores, entretanto, como Bonne e Bonne-Wepster (1925), admittem apenas, como generos distinctos, *Joblotia* e *Goeldia,* incluindo neste ultimo, as especies de *Isostomyia.*

Ao meu vêr, porém, a razão está com Dyar, pois se as especies de *Joblotia* bem se distinguem das dos dois generos, por apresentarem o clypeus cerdoso, as de *Goeldia* tambem se differenciam das de *Isostomyia,* porquanto, nestas, os palpos são curtos em ambos os sexos, emquanto que naquellas elles são longos no macho e curtos na femea.

A difficuldade na caracterisação dos dois ultimos generos surge tão sómente quando que se nos apresenta, para determinação, apenas um especimen femea. Neste caso, porém, a duvida poderá ser resolvida pela distribuição das cerdas sternopleuraes. Segundo Dyar, em todas as especies até agora descriptas de *Isostomyia,* as referidas cerdas acham-se inseridas distinctamente abaixo da margem superior do esclerito lateral do metasterno, emquanto que nas especies de *Goeldia,* as mesmas cerdas se estendem acima dessa margem.

Na parte final do presente artigo descreverei uma nova especie de *Isostomyia,* em que, por excepção, as alludidas cerdas se distribuem como nas especies do genero *Goeldia,* isto é, estendendo-se acima da margem superior do esclerito metasternal lateral. A referida excepção é equivalente a que se observa na especie *espini,* que não apresenta cerdas pronotaes—tambem ausentes na nossa especie—porém sempre presentes nas demais especies de *Isostomyia.*

(*) Recebido para publicação a 12 de Janeiro de 1931.

Ha ainda, na especie que descreverei, como outro caracter excepcional, não observado em nenhuma das especies de *Isostomyia* até agora descriptas, a presença de uma proboscida mais curta que o abdomen e dilatada na extremidade.

Pode-se, em resumo, dizer que a alludida especie só não é uma *Goeldia,* porque os palpos são curtos em ambos os sexos.

Do genero *Joblotia* havia, numa antiga collecção do Instituto, um especimen velho de *Joblotia digitata* (Rondani, 1848) (= *Culex digitatus* Rondani, 1848; *Trichoprosopon nivipes* Theobald, 1901; *Trichoprosopon wilsoni* Ludlow, 1918), actualmente conservado no vidro nº 464 e apanhado no Rio Doce (Estado do Espirito Santo). Uma das azas desse exemplar foi montada na lamina nº 1044 (fig. 1).

Na collecção do Dr. A. Lutz ha 5 exemplares desta especie e 5 de *J. compressa* (Lutz).

As terminalias das duas especies são bem differentes, principalmente no aspecto dos nonos tergitos: em *J. digitata* elles são reunidos na linha mediana e apresentam espinhos curtos e robustos, dispostos em 3 fileiras; em *J. compressa* os dois tergitos são largamente separados, apresentando cada um 6 a 7 espinhos longos, foliaceos (V. figs. 7 e 8).

Do genero *Goeldia,* encontrei, na mesma collecção, alguns exemplares mal conservados de *Goeldia lunata* (Theobald), que foram guardados nos vidros 515, 516 e 694.

Uma das azas e a terminalia do macho do vidro nº 515 (fig. 9), acham-se, respectivamente, nas laminas 1105 e 1106 e a aza da femea do vidro 516, na preparação nº 1107 (fig. 2).

A terminalia (fig. 10) e a aza do exemplar do vidro nº 694, estão montadas nas laminas 1293 e 1294.

Na collecção do Dr. A. Lutz ha 4 especimens de *G. lunata.*

Encontrei ainda um exemplar de *Goeldia pallidiventer,* muito avariado, que guardei no vidro nº 618. Na collecção do Dr. Lutz ha 8 exemplares desta especie.

Na velha collecção do Instituto achei 4 especimens femeas de uma *Goeldia,* com caracteres de *Goeldia trichopus* (Dyar) e de *Goeldia longipes* (Fabricius) apanhados sobre cavallo pelo Dr. Cezar Pinto, na Fazenda de São João (Matto Grosso).

Estes especimens acham-se actualmente na nossa collecção nos vidros 696 a 699 e a aza de um delles foi montada nas laminas 1295 (fig. 3).

Dyar, á proposito de *trichopus* diz: «Doubtfully distinct from *longipes*».

Ao meu vêr, baseado no exame dos alludidos especimens, a especie de Dyar é uma variação da de Fabricius.

Sobre a *Goeldia pallidiventer* devo fazer algumas considerações.

Em primeiro lugar a especie é de Lutz e não de Theobald, como se lê no livro de Dyar. De facto, Lutz descreveu-a, sob o nome de *Hyloconops pallidiventer*, em 1905 na *Imprensa Medica* (vol. XIII, 7, 10 de abril, p. 125-127) [1].

Acredito que seja uma especie relativamente commum no Brasil, tendo sido encontrada no Districto Federal e nos Estados do Rio de Janeiro, de São Paulo e de Minas Geraes.

Consegui obter 3 exemplares desta especie (2 machos e 1 femea), de larvas colhidas por Carlos Alberto Campos Seabra, no Alto da Bôa Vista (Tijuca, Rio de Janeiro), em internodios de bambú, com larvas de *Miamyia* (*Miamyia*) *lutzi* Lima. Os referidos mosquitos apresentam-se com os caracteres assignalados por Lutz em sua descripção original e o aspecto da terminalia do macho está de accôrdo com a descripção da mesma feita por Dyar (1928).

As femeas estão guardadas nos frascos nºs. 525 e 542 e o macho no frasco nº. 519. As exuvias larvaes e nymphaes daquellas acham-se, respectivamente, nas laminas 1095, 1115, 1120 e 1131. As exuvias larval e pupal do macho nas laminas 1094 e 1109 e a terminalia do mesmo na preparação 1110.

Nas figuras 15, 17, 19 e 21 podem ser apreciados os principaes detalhes da larva e da pupa desta especie, que ainda não haviam sido descriptas ou figuradas.

Da *G. longipalpis* Lutz ha, na collecção de Lutz, 4 exemplares. A terminalia do macho está de accôrdo com a descripção feita por Dyar para *G. vonplesseni*. Nesta especie, como em *G. fluviatilis*, é extraordinariamente alongado o gancho terminal da pinça (clasper) (V. fig. 11).

---

[1] O mesmo devo dizer em relação ás seguintes especies. *Goeldia longipalpis*, descripta por Lutz em 1905, sob o nome de *Hyloconops longipalpis* (*Imprensa Medica*, vol. XIII, 7, 10 de abril, p. 127-128), tendo assim este nome prioridade sobre *vonplesseni*, applicado a mesma especie por Dyar & Knab em 1906; *Joblotia splendens*, descripta por Lutz em 1905, sob o nome de *Trichoprosopon splendens* (*Imp. Med.*, XIII, 9, 10 de maio, p. 167-170) e não, originalmente, por Peryassú, como se lê no livro de Dyar; *Joblotia compressa*, tambem anteriormente descripta por Lutz em 1905, sob o nome de *Trichoposopon compressum* (*Imp. Med.*, XIII, 9, 10 de maio, p. 171-172), e não por Theobald, que a redescreveu em 1907.

Quanto a especie citada no livro de Dyar com o nome *Goeldia lineata* (Peryassú), ha a referir o seguinte. A especie foi descripta por Lutz em 1905 (*Imprensa Medica*, XIII, 11, 10 de junho, p. 202-203), com o nome de *Rhynchomyia lineata*. Lutz baseou a sua descripção n'um exemplar macho bastante avariado, apanhado em S. Paulo. Como o typo se perdeu, fallei com Lutz a respeito desse mosquito. Elle me informou ter verificado, tempos depois de ter feito a sua descripção, que o referido insecto era um macho de *Stethomyia nimba*.

Do genero *Isostomyia* encontrei, na velha collecção do Instituto, 10 exemplares mutilados de *I. paranensis* (Brèthes), provavelmente trazidos da Republica Argentina pelo Dr. Arthur Neiva. Desses exemplares, 3, guardados no vidro nº 522, ainda conservam os rotulos, feitos por Brèthes, com a indicação: «Rio Santiago, 18—XI—15» e n'um delles ha o nome «*Lynchiaria paranensis*» e o numero 7789.

Os demais especimens, sem os rotulos originaes, foram guardados nos vidros 523 e 524. Dou a photomicrographia da aza de um dos exemplares, montada na preparação nº. 1114 (fig. 5).

———

Em janeiro de 1930, o Sr. Paulo Alves da Silva offereceu-me duas larvas, colhidas pelo Sr. José Figueira Ladeiras em internodio de bambú numa chacara em Laranjeiras (Rio de Janeiro), que deram 2 mosquitos (1 macho e 1 femea), actualmente guardados no vidro nº 462 da nossa collecção. As exuvias larvaes e pupaes acham-se montadas nas laminas 1027, 1028, 1035-1040 (figs. 16, 18, 20 e 22). A aza de um dos exemplares está na preparação nº 318 (fig. 6) e a genitalia do macho na preparação nº 1029 (fig. 14).

Taes mosquitos, a que já me referi no começo deste artigo, apresentam caracteres de *Goeldia* e de *Isostomyia*. Em ambos a disposição das cerdas sternopleuraes é identica a que se vê em *Goeldia*, isto é, estendendo-se acima da margem superior do esclerito lateral do metasterno. Faltam as cerdas pronotaes. Entretanto, os palpos são igualmente curtos nos dois especimens, sendo a proboscida 4,6 vezes mais comprida que elles. Por esta combinação de caracteres julguei acertado classifical-os no genero *Isostomyia*, não obstante, neste genero, como assignalaram Dyar & Shannon (1924), as cerdas sternopleuraes se inserirem distinctamente abaixo do bordo superior do esclerito lateral do metasterno e, em todas as especies descriptas, inclusive a especie genotypo (*Aëdes perturbans* Williston, 1896), a proboscida ser sempre mais comprida que o abdomen. Proponho para a referida especie, que me parece nova, o nome:

Isostomyia brevipes sp. n.

Trata-se de uma especie extremamente parecida com a *Goeldia pallidiventer*. De facto, *todos os caracteres* referentes á coloração da especie de Lutz são tambem observados nos dois exemplares de *brevipes*, inclusive a côr das pernas,

que não apresentam marcas brancas, e a do scutellum, que se apresenta tambem revestido de escamas chatas com brilho azul.

As duas especies, porém, se distinguem facilmente pelos seguintes caracteres:—um pouco menor que *pallidiventer* (pouco menos de 5 mm. de comprimento, menos a proboscida);—pernas notavelmente menos alongadas, pois se em *pallidiventer* o comprimento dos 5 articulos tarsaes das pernas posteriores é maior que o dobro do abdomen, em *brevipes* o abdomen é pouco mais curto que o comprimento daquelles mesmos articulos;—antennas igualmente pillosas em ambos os sexos, quando em *pallidiventer* ellas são pillosas na femea, porém densamente plumosas no macho;—palpos curtos em ambos os sexos, sendo a proboscida quasi 5 vezes mais comprida que elles; em *pallidiventer*, como bem descreveu Lutz, se na femea os palpos são bem mais curtos que a proboscida, no macho elles são de igual tamanho ao da tromba.

A terminalia do macho de *brevipes* apresenta aspecto absolutamente caracteristico, como se póde ver na photomicrographia da fig. 14.

Estou convencido que o especimen examinado por Dyar e por elle referido nas suas notas sobre o genero *Goeldia* (1923) era um exemplar de *brevipes* e não de *pallidiventer*. Aliás, elle mesmo suspeitou que se tratasse de uma outra especie, como se póde ver nas linhas que se seguem:

> «A specimen before me from Brazil differs, however, in the extremely short side pieces, which are scarcely longer than broad, and the distinctly long spine of the clasper. The eighth segment too, is very strongly chitinized, and there are a number of other small differences. The species seems distinct».

Realmente todos esses caracteres são observados na terminalia montada na preparação nº 1029 e representada na figura 14, a qual pode ser comparada com as figs. 12 e 13, representativas da terminalia de *pallidiventer*.

COTYPOS: 1 femea e 1 macho montados no frasco nº. 462.

Larva: E' tambem extremamente semelhante á larva de *G. pallidiventer*, até mesmo nos minimos detalhes estructuraes, como se pode ver comparando as figuras 16, 18, 20 e 22 com as figuras 15, 17, 19 e 21. Em ambas ha no 8º uromero de 4 a 8 escamas espinhosas (figs. 24 e 27) (2, 3 ou 4 de cada lado), havendo maior numero nas larvas dos machos. Em ambas, tambem, o syphão apresenta 2 conspicuos tufos de cerdas posteriormente, dois outros, bem menos evidentes, anteriormente e, finalmente, um pequeno tufo de 3 cerdas finas no apice, em posição opposta a dos dois ganchos apicaes. Ha entretanto pequenas differenças na chaetotaxia dos segmentos thoraxicos e abdominaes, apresentando-se os tufos de cerdas curtas em *brevipes*, com estas mais robustas e denegridas que em *pallidiventer*, como se pode apreciar nas figuras. Nas figuras 21 e 22 apresento photomicrographias das exuvias pupaes.

BIBLIOGRAPHIA

BONNE-WEPSTER, J. & BONNE, C.

1921—Notes on south-american mosquitoes in the British-Museum.
Ins. Insc. Mens., 9: 12—18.

BONNE, C. & BONNE-WEPSTER, J.

1925—Mosquitoes of Surinam.
Royal Colonial Institute of Amsterdam, p. 138—161.

DYAR, H. G.

1921—Comment on the preceding paper.
Ins. Insc. Mens., 9: 27.

1923—Notes on Goeldia.
Ins. Insc. Mens., 11: 81—88.

1925—The mosquitoes of Panama.
Ins. Insc. Mens., 13: 127—131.

1928—The mosquitoes of the Americas.
Carneg. Inst. Washington, p. 90-107.

DYAR, H. G. & SHANNON, R. C.

1924—The subfamilies, tribes, and genera of American Culicidae.
Journ. Wash. Acad. Sci., 14: 482-483.

LUTZ, A.

1905—Novas especies de mosquitos do Brasil,
Imp. Med., 13: 125-127; 169-171.

EXPLICAÇÃO DAS ESTAMPAS XVIII—XXIV

ESTAMPA XVIII

Fig. 1.—*Joblotia digitata*. Aza montada na prep. 1044 (× 17).
Fig. 2.—*Goeldia lunata*. Aza montada na prep. 1107 (× 17).
Fig. 3.—*Goeldia longipes*. Aza montada na prep. 1295 (× 17).
Fig. 4.—*Goeldia pal idiventer*. Aza montada na prep. 1043 (× 17).
Fig. 5.—*Isostomyia paranensis*. Aza montada na prep. 1114 (× 17).
Fig. 6.—*Isostomyia brevipes*. Aza montada na prep. 1318 (× 25).

ESTAMPA XIX

Fig. 7.—*Joblotia digitata*. Terminalia montada na prep. 1311 (× 115)
Fig 8.—*Joblotia compressa*. Terminalia montada na prep. 1314 (× 115).

ESTAMPA XX

Fig. 9.—*Goeldia lunata*. Terminalia montada na prep. 1106 (× 115).
Fig. 10.—*Goeldia lunata*. Terminalia montada na prep. 1293 (× 115).

ESTAMPA XXI

Fig. 11.—*Goeldia longipalpis*. Terminalia montada na prep. 1315 (× 115).
Fig. 12.—*Goeldia pallidiventer*. Terminalia montada na prep. 1110 (× 115).

ESTAMPA XXII

Fig. 13.—*Goeldia pallidiventer*. Terminalia montada na prep. 1316 (× 115).
Fig. 14.—*Isostomyia brevipes*. Terminalia montada na prep. 1029 (× 115).

ESTAMPA XXIII

Fig. 15.—*Goeldia pallidiventer*. Exuvia larval montada na prep. 1095 (× 11).
Fig. 16.—*Isostomyia brevipes*. Exuvia larval montada na prep. 1036 (× 11).
Fig. 17.—*Goeldia pallidiventer*. Parte cephalica da exuvia larval (× 45).
Fig. 18.—*Isostomyia brevipes*. Parte cephalica da exuvia larval (× 45).

ESTAMPA XXIV

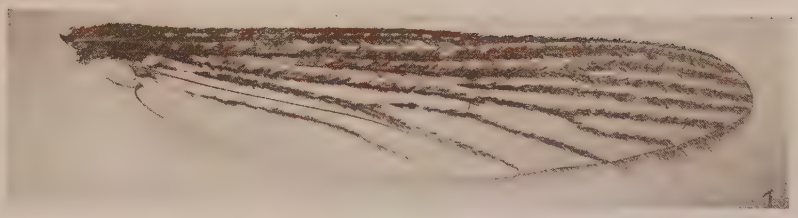
Fig. 19.—*Goeldia pallidiventer*. Parte caudal da exuvia larval (× 45).
Fig. 20.—*Isostomyia brevipes*. Parte caudal da exuvia larval (× 45).

ESTAMPA XXV

Fig. 21.—*Goeldia pallidiventer*. Exuvia pupal, montada na prep. 1109 (× 11).
Fig. 22.—*Isostomyia brevipes*. Exuvia pupal montada na prep. 1039 (× 11)

ESTAMPA XXVI

Fig. 23.—*Goeldia pallidiventer*. Maxilla da larva.
Fig. 24.—*Goeldia pallidiventer*. Escamas do pente siphonal da larva.
Fig. 25.—*Goeldia pallidiventer*. Antenna e placa labial da larva.
Fig. 26.—*Isostomyia brevipes*. Placa labial da larva.
Fig. 27.—*Isostomyia brevipes*. Escamas do pente siphonal.



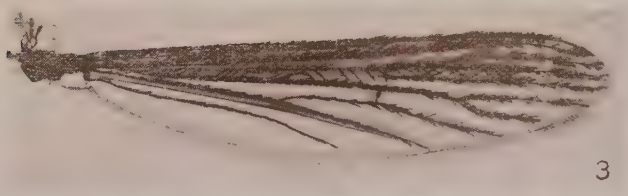


Photo J. Pinto.

Dr. Costa Lima : Nota sobre sabethineos do grupo *Joblotia*.

Photo J. Pinto.

Dr. Costa Lima : Nota sobre sabethineos do grupo *Joblotia*.

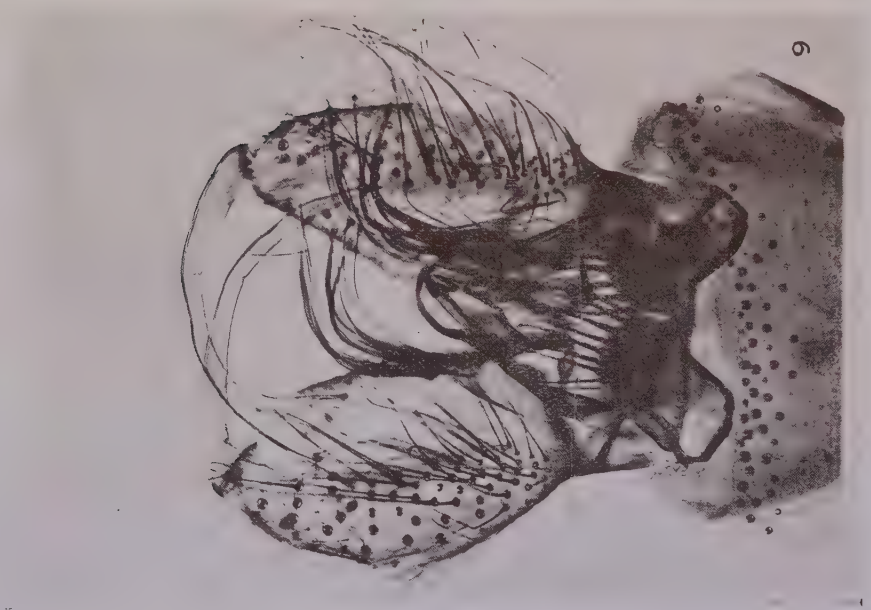


Photo J. Pinto.

Dr. Costa Lima : Nota sobre sabethineos do grupo *Joblotia*.

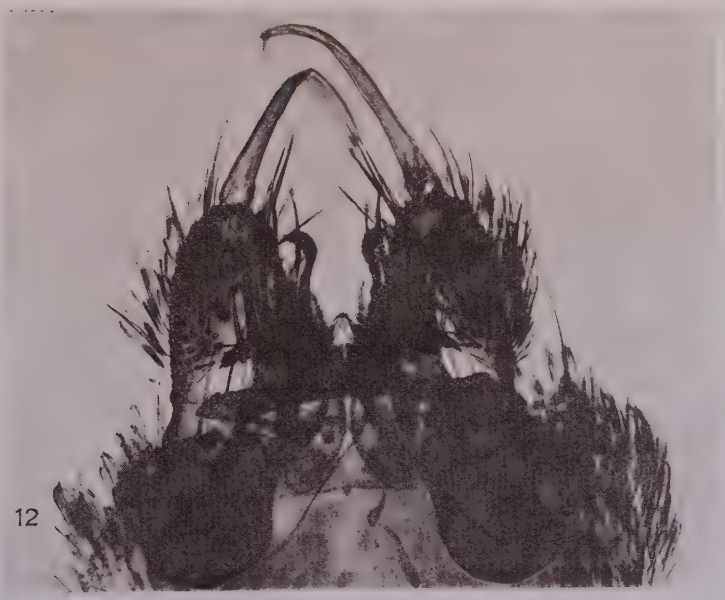
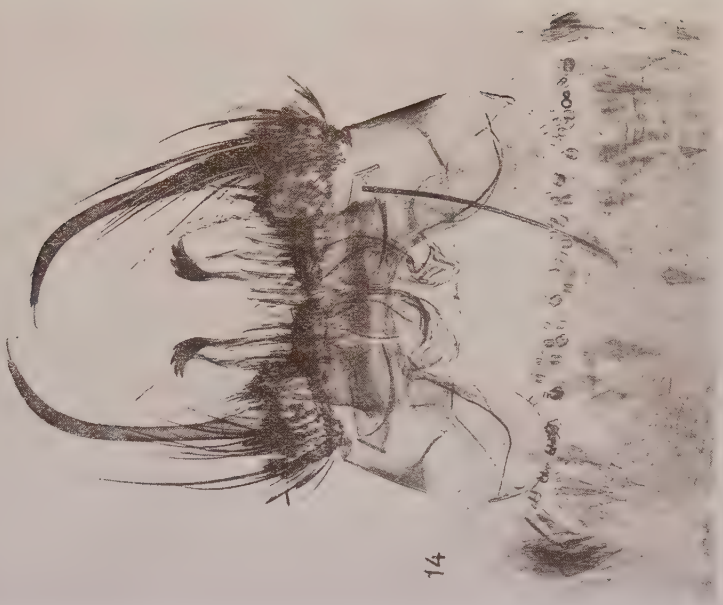


Photo J. Pinto.



14

13

Photo J. Pinto.

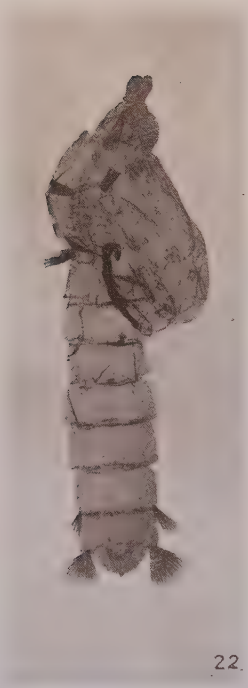
Dr. Costa Lima : Nota sobre sabethineos do grupo *Joblotia*.

Photo J. Pinto.

Photo J. Pinto.

Dr. Costa Lima : Nota sobre sabethineos do grupo *Joblotia*.

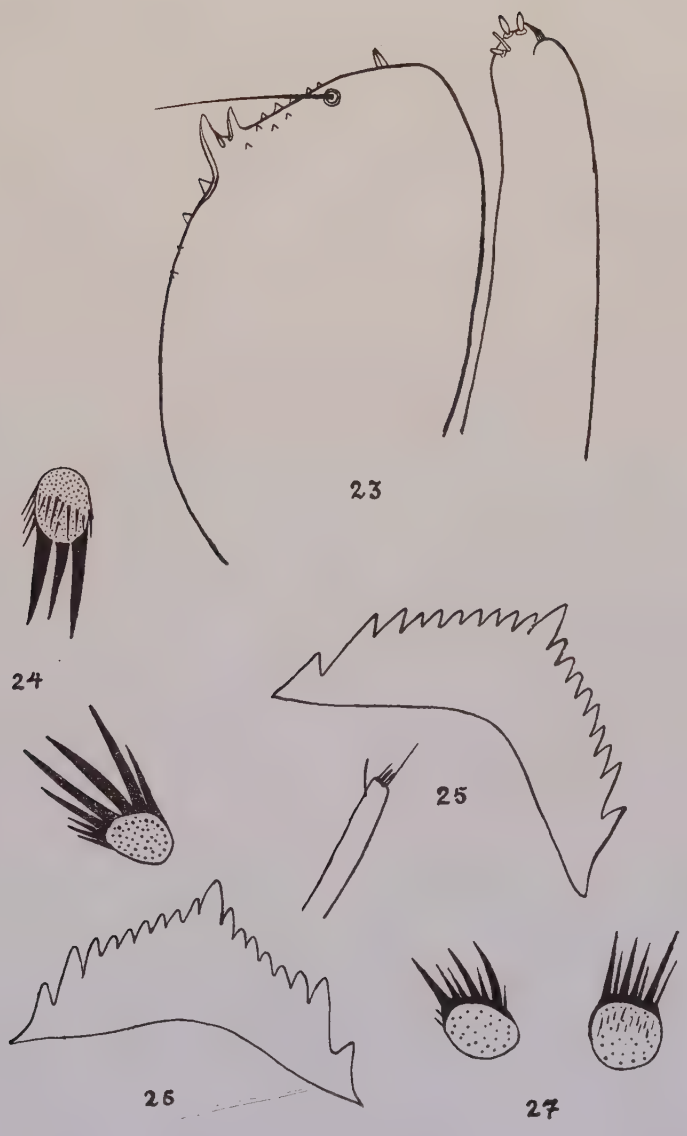
21



22

Photo J. Pinto.

Dr. Costa Lima: Nota sobre sabethineos do grupo *Joblotia*.



Dr. Costa Lima : Nota sobre sabethineos do grupo *Joblotia*.

A regulação do lobo anterior da hypophyse por um hormonio testicular, especialmente sob o ponto de vista morphologico

por

THALES MARTINS e **ARNOLDO ROCHA**

Laboratorio de Endocrinologia, Instituto Oswaldo Cruz

(Com a estampa XXVII)

O SYNDROMO PUBERDADE PRECOCE POR PARABIOSE

Quando se unem em parabiose dois ratos infantis, um dos quaes castrado, o companheiro normal apresenta em poucos dias todos os signaes da puberdade precoce.

Assim, si femea, observa-se a maturação do ovario, caracterisada pelo crescimento dos folliculos, que vão até á ruptura e ovulação. O hormonio ovariano influe secundariamente sobre o utero e vagina, provocando o estro. Este syndromo da *pubertas precox* já se observa a partir de 7 dias de vida parabiotica, e é condicionado pela passagem dos hormonios prehypophysarios do animal castrado para o normal, como foi demonstrado por Kallas, Fels e Martins.

Após a castração ha, portanto, uma inundação do organismo por esses hormonios.

Sendo as gonadas orgãos utilisadores dos increta hypophysarios, esses ficariam accumulados no meio circulante, por falta de fixação. Mas argumentos experimentaes demonstram que ha sobretudo uma hyperfuncção da pituitaria anterior.

Assim, nos pares femea castrada + femea normal, a injecção na primeira de extractos contendo oestrina, impede a puberdade precoce da segunda; entretanto, si o companheiro castrado é do sexo masculino, o tratamento é inactivo (Kallas).

Por outro lado, a implantação de testiculo, ou a injecção de macerados testiculares tem acção impediente, quando o companheiro castrado é macho (Martins e Rocha).

(*) Recebido para publicação a 24 de Janeiro de 1931.

Dessa maneira se demonstra que as gonadas têm uma influencia activa sobre a hypophyse, regulando o seu funccionamento; é sobretudo a ausencia desse factor limitante que explica o conjuncto dos phenomenos sexuaes dos parabiontes.

ALTERAÇÕES HISTOLOGICAS DA HYPOPHYSE APÓS A CASTRAÇÃO

Além da prova physiologica descripta, a histologia constitue um test apreciavel do momento funccional da glandula.

A ablação cirugica das gonadas resulta em modificações da proporção normal de typos cellulares do lobo anterior (eosinophilos, basophilos e cellulas principaes), além de alterações na propria estructura da cellula.

Os autores, desde Fichera, discordam no considerar essas alterações. O elemento mais imponente é o apparecimento de grandes cellulas de cytoplasma granular, mal coraveis, tendo um vacuolo cheio de material colloide e no centro, um disco de coloração mais forte; são elementos inconfundiveis. A' medida que se alonga o tempo após a castração, o vacuolo cresce, o cytoplasma fica reduzido a um annel peripherico, cercando uma cavidade transparente. A posição excentrica do nucleo dá á cellula um aspecto de annel de timbre, como foi comparado por Schleidt.

Essas cellulas são ordinariamente chamadas cellulas de castração. Quanto á natureza, Biedl-Zacherl admittem que provenham das eosinophilas, e Lehmann, Nukariya, Schenk, Van Wagenen, Addison, das basophilas; julgamos essa ultima origem a mais acceitavel.

De qualquer modo, são elementos facilmente diagnosticaveis, e qualitativos, porque não existem na hypophyse normal.

Mesmo nos animaes infantis, na phase prepuber em que o funccionamento da hypophyse é reduzido, a castração provoca muito precocemente o apparecimento de alterações cytologicas no lobo anterior.

CONTROLE DO LOBO ANTERIOR PELA INTRODUCÇÃO DE MATERIAL TESTICULAR.

Os dados resumidos no quadro são referentes a uma serie de parabioses de ratos infantis, constituida por femeas normaes unidas a castrados. Em cada par, o companheiro gonadectomisado era submettido a implantações [1] de testiculo ou de outras glandulas endocrinas. O resultado

[1] Convem lembrar que se trata no caso de implantações, isto é, introducção do orgão com o fito de agir pela absorpção das substancias nelle contidas. Enxerto é a implantação que pega, que funcciona no organismo receptor. Se se tratasse de enxerto, as nossas experiéncias seriam apenas variantes da parabiose de dois animaes normaes, caso em que não se verifica nenhuma acção hypophysaria, de um animal sobre o outro.

quanto aos effeitos hypophysarios já foi descripto em trabalho anterior, e é dito em resumo no inicio deste.

Para o estudo histologico, fixava-se a glandula em Zenker-formol, coloração pela hemat. eosina, e contava-se o numero de cellulas com inicio de vacuolisação, isto é, cellulas de castração em suas fórmas iniciaes. A figura 1 dá um exemplo desses elementos. As nossas observações confirmam as de Lehmann, que, pela implantação de testiculo em ratos machos adultos e castrados, constatou o desapparecimento das cellulas de castração.

Em relação aos effeitos observados na companheira normal, elles reflectem fielmente o que revelou a histologia da hypophyse. Assim, nos casos em que a hypophyse do castrado não tinha as cellulas caracteristicas, nenhum estimulo da genitalia era encontrado. Ao contrario, as companheiras dos portadores de cellulas de castração abundantes, mostravam todos os signaes da puberdade precoce.

Podemos portanto considerar que no rato, as alterações cytologicas do lobo anterior acima descriptas caracterisam o quadro morphologico da glandula em hyperfuncção, no tocante aos hormonios reguladores das gonadas.

Tratando-se de elementos basophilos, tal observação reforça a hypothese de que os hormonios estimulantes das glandulas sexuaes sejam secretados pelos elementos basophilos, ao passo que as cellulas eosinophilas elaborariam o hormonio de crescimento, como foi aventado por Evans e Simpson.

A HYPOPHYSE ANTERIOR EM DIFFERENTES MOMENTOS FUNCCIONAES.

Si tomarmos agora em consideração a hypophyse durante a gravidez, impõe-se á primeira vista uma grande differença de estructura, comparada á dos castrados. O que se verifica em tal caso é o apparecimento de numerosas cellulas chamadas *de gravidez,* provenientes das cellulas principaes. Ora, sabido que, pelo menos nos primatas, a gestação innunda o organismo de substancias de acção analoga aos hormonios hypophysarios (Aschheim e Zondek), tem todo o cabimento a duvida de que tal quadro histologico corresponda tambem á condição funccional de supersecreção de hormonios gonado-estimulantes.

E' verdade que ainda não se conseguiu verificar, nos pequenos roedores, a mesma symptomatologia hormonal gravidica dos primatas, e convém insistir nas pesquizas, antes da conclusão negativa. Mas o facto é que, comparados os resultados das hypophyses implantadas, as de doa-

dores prenhos não são apreciavelmente mais ricas e activas que as de não prenhas (Evans e Sympson, utilisando hypophyses de vaccas e ratos).

Philipp fez um estudo comparativo da hypophyse de mulheres gravidas e não; constatou o facto muito importante que a hypophyse de gestantes tem actividade menor ou nulla, a julgar pelo methodo das implantações em animaes infantis.

E' que a placenta é provavelmente a maior fonte desses hormonios, por uma serie de argumentos que desenvolvemos em artigo anterior. São muito eloquentes as observações de chorio-epithelioma, em que Aschheim encontrou até 250.000 unidades por litro; em uma paciente portadora de mola hydatiforme, ainda no 4º dia após a curetagem, encontramos 65.000 unidades morganho (camondongo) por litro de urina. O tecido trophoblastico é pois, com toda a probabilidade, responsavel pela elaboração das substancias analogas aos hormonios hypophysarios durante a gravidez.

PLURALIDADE DOS HORMONIOS TESTICULARES.

Agora se apresenta o problema de saber si o hormonio regulador da hypophyse, no macho, é o mesmo que actua sobre os caracteres sexuaes secundarios.

Em varios trabalhos anteriores temos desenvolvido argumentos e factos, tendentes a provar a dualidade dos hormonios testiculares. Assim, as intervenções que modificam o epithelio seminal (vasoligadura, cryptorchidismo), sem alteração visivel da genitalia accessoria, influem no funccionamento do lobo anterior da hypophyse. As nossas experiencias de parabiose de cryptorchidicos estabelecem ainda que nessa situação os hormonios hypophysarios circulam em quantidade notavel. No ponto de vista hypophysario, o cryptorchidismo é uma castração attenuada; a degeneração do epithelio germinal diminue portanto a acção limitante do testiculo sobre a prepituitaria.

Outra dissociação de effeitos se depara pela introducção de material testicular em castrados. Assim, as implantações de testiculo referidas atraz mantem normal a hypophyse dos ratos infantis castrados, sem que se observe a menor influencia sobre a genitalia, que permanece infantil.

Não só prophylactico, mais ainda regenerador, pode ser tal tratamento. A injecção de macerados ou extractos aquosos de testiculo, normalisa o aspecto histologico da hypophyse, mesmo em animaes de longo prazo de castração. Ainda nestes, nenhum effeito positivo é observado relativamente ás glandulas accessorias, que permanecem identicas ás do controle não tratado.

Esses resultados contradictorios se harmonisam si admittirmos a dualidade dos hormonios testiculares.

SUBSTRATO ANATOMICO DA SECREÇÃO DO HORMONIO TESTICULAR REGULADOR DA HYPOPHYSE. NOMENCLATURA.

Discute-se ainda a fonte do hormonio masculino classico, dividindo-se as preferencias entre os adeptos do intersticio e do epithelio germinal. Quanto ao segundo hormonio, ora aventado, parece-nos forte a evidencia de que seja elaborado pelos elementos seminaes.

Admittida tal dualidade não será possivel evitar confusões e circumloquios, sem uma terminologia adequada. Os nomes dados a hormonios não obedecem a criterio uniforme; no caso do testiculo, a ausencia de bases chimicas, morphologicas, ou funccionaes solidas difficultam uma escolha definitiva; mas não ha inconveniente grave no uso, ainda que provisorio, de uma denominação qualquer. Por esse motivo, e sem ter pretensões quanto á sobrevida longa, passaremos a denominar—Andrhormon ou Andrina—o hormonio testicular que regula o funccionamento do lobo anterior da hypophyse. Tal denominação evidencia a sua caracteristica essencialmente masculina, pois dentro de certos limites quantitativos, elle só age sobre a hypophyse do macho. Elle é muito mais especifico do sexo que o hormonio classico, porque este ultimo viriliza a femea em sua morphologia genital.

O test para este hormonio é a hypophyse dos castrados. Injectado, deve prevenir as modificações caracteristicas da gonadectomia, ou normalisar a glandula já alterada. A parabiose será um revellador funccional, pois a introducção de andrina no parceiro castrado impedirá o syndromo puberdade precoce da companheira normal.

⁂

Concentrando os dados anteriores, podemos concluir que:

1º A hypophyse anterior do macho é controlada por um hormonio testicular;

2º O testiculo infantil já elabora esse hormonio, que tem uma certa especificidade de sexo;

3º A identidade deste com o hormonio testicular classico é muito duvidosa;

4º A sua elaboração, com toda a probabilidade, compete ao epithelio germinal.

QUADRO 1

Pares macho castrado + femea normal.

N. de ordem	Tempo de castração (dias)	Material implantado no castrado. (doador : rato)	Hypophyse do castrado. Numero de cellulas do lobo anterior com vacuolisação inicial (em 10 campos, × 1000)
5	14	Testiculo infantil	2
7	12	« «	0
8	12	« «	3
11	9	« «	0
12	9	« «	0
14	9	« «	2
19	9	« adulto	1
27	10	« «	4
18	9	Thymo	24
28	9	«	13

Pares femea castrada + femea normal.

6	14	Testiculo infantil	26
9	12	« «	31
16	8	« «	23
22	9	« adulto	39
21	9	« «	35
29	10	« «	17
20	12	Suprarenal	15

BIBLIOGRAPHIA

ADDISON, W.—Anat. rec., 10, 171, 1916.
ASCHHEIM, S. e B. ZONDEK—Klin. Woch., 7, 1323, 1928.
BIEDL, A.—Innere Sekretion, 2, 108, 1916.
EVANS, H. M. e M. SIMPSON—Am. J. of Physiol., 89, 379, 1929.
——— J. of the Am. Med. Ass., 91, 1337, 1928.
ENGLE, E.—Am. J. of Physiol., 88, 101, 1929.
FELLS, E.—Arch. für gynäk., 138, 16, 1929.
FICHERA—Arch. ital. Biol., 43, 405, 1905.
KALLAS, H.—Pflüger's Arch., 223, 232, 1929.
——— —Klin. Wochsch., 9, 1345, 1930.
LEHMANN, J.—Pflüger's Arch., 216, 729, 1927.
MATSUYAMA, R.—Frankf. Zeits. f. Pathol., 25, 436, 1921.
MARTINS, TH.—C. rend. Soc. Biol., 102, 614, 1929.
——— —Idem, 105, 789, 1930.
——— —Brasil Med., 1416, 1929.

MARTINS, TH. e A. ROCHA—C. rend. Soc. Biol., 105, 793 e 795, 1930.
NUKARIYA, S.—Pflüger's Arch., 214, 697, 1926.
PHILIPP, E.—Zbl. f. Gynäk. 54, 430, 1930.
SCHENK, F.—Zeitsch. f. Geburtsh., 91, 483, 1927.
SCHLEIDT, —Zbl. f. Physiol., 27, 1170, 1914.
VAN WAGENEN, G.—Anat. rec., 29, 398, 1925.

SUMMARY

THE REGULATION OF THE ANTERIOR HYPOPHYSIS BY A TESTICULAR HORMONE, PRINCIPALLY UNDER MORPHOLOGICAL CONSIDERATION.

The authors summarize the results of former works, based on the technics of parabiosis.

After parabiotic union of two infantile rats, normal + castrate, the normal fellow enters into precocious puberty in about 7 days (Kallas).

In the case of pairs: castrated male + normal female, the implants of testicles, or injection of maceration or aqueous extracts of testis in the castrated fellow, prevents the induction of early puberty in the normal female.

In the case: castrated female + normal female, no inhibiting effect is provoked by that treatment.

There is therefore a testicular hormone that regulates the hypophysis. After castration, this gland manifests a hyper-function and shows histological alterations, the chief character of these being the appearing in the anterior lobe, of the so-called castration cells, probably originated from basophile cells.

Implants or injections of testis material prevent those alterations.

This is a useful test; the effect is controlled by estimating the castration cells in the microscopic field.

The testicular hormone that regulates the anterior lobe is probably another one, quite different from that which regulates the accessory genitalia.

On account of the facts and experiments, it may be assumed that this new hormone is elaborated by the germinal epithelium of the testicles.

EXPLICAÇÃO DA ESTAMPA XXVII

ESTAMPA XXVII

Fig. 1.—Desenho em camara lucida, (× 1400). Cellulas de castração; fórmas de vacuolisação inicial, e uma typica em annel, em um mesmo campo microscopico. Hypophyse anterior de rato femea, 8 semanas após a castração.

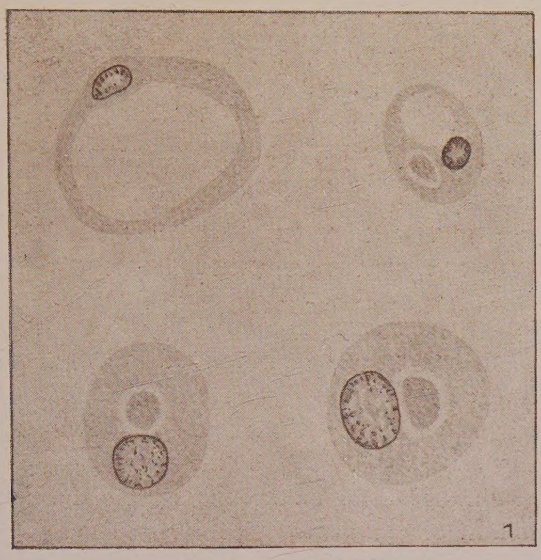
Fig. 2.—Cellula com vacuolisação inicial. 9 dias após a castração, rato femea infantil. Microphot., (× 2000).

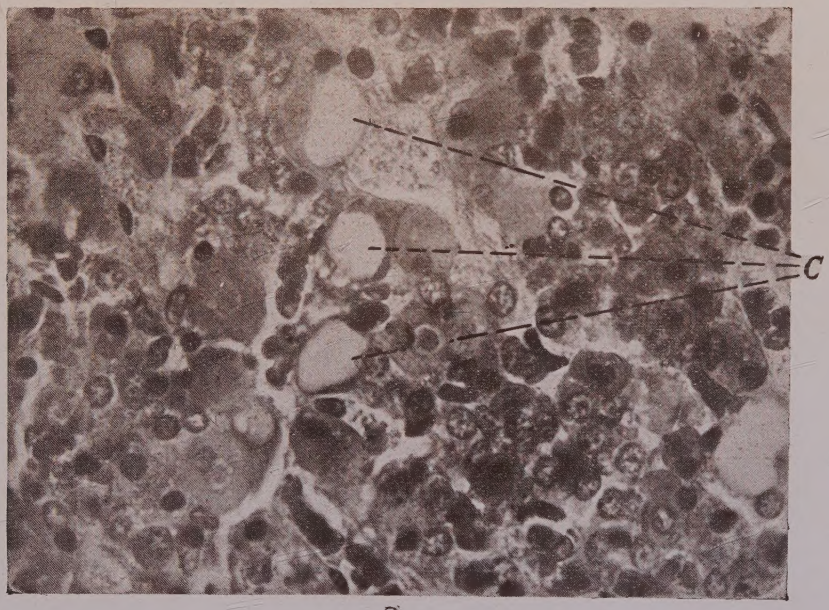
Fig. 3.—Hypophyse anterior de rato, 50 dias após a castração. Fórmas em annel e typos de transição. Microphot., (× 800).

Desenho de P. de Moraes.

Photos de J. Pinto.

Typ. do Instituto Oswaldo Cruz — Rio de Janeiro — Brasil.





3

Thales Martins e Arnoldo Rocha : A regulação do lobo anterior da hypophyse por um hormonio testicular, especialmente sob o ponto de vista morphologico.